Physiologisch-oekologische Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel der Mollusken

Mit 1 Abbildung im Text

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von der Philosophischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von

J. M. Spitzer
aus New York

1937

Physiologisch-oekologische Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel der Mollusken

Mit 1 Abbildung im Text

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von der Philosophischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von

J. M. Spitzer
aus New York

1937

Berichterstatter: Prof. Dr. Reichensperger
Prof. Dr. Heidermanns

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Abdruck aus den
Zoologischen Jahrbüchern. Bd. 57. Abt. f. allg. Zool. u. Physiol. 1937.
Begründet von J. W. Spengel.
Herausgegeben von M. Hartmann in Berlin-Dahlem u. R. Hesse in Berlin-Frohnau.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.
Lippert & Co. G.m.b.H., Naumburg (Saale)
Printed in Germany

Nachdruck verboten.
Übersetzungsrecht vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

I. Einleitung 458
II. Allgemeine Methodik 459
III. Quantitative Untersuchung über die Zusammensetzung des Reststickstoffs 462
A. Lamellibranchiata 462
1. *Unio pictorum* L. 464
2. *Mytilus edulis* L. 466
B. Gastropoda 468
Prosobranchiata 468
1. *Paludina* (*Vivipara*) *vivipara* L. 468
2. *Littorina littorea* L. 471
Pulmonata 474
3. *Limnaea stagnalis* L. 474
4. *Arion empiricorum* Fèr. 475
IV. Der Abbau der Harnsäure bei Autodigestion nach Harnsäurezusatz . . 478
V. Die oxydative und synthetische Harnsäurebildung 484
VI. Vergleichende Betrachtung der Resultate 487
VII. Zusammenfassung 493
VIII. Literaturverzeichnis 494

I. Einleitung.

Gegen Ende des letzten und zu Beginn dieses Jahrhunderts sind zahllose Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel der Mollusken durchgeführt worden. Sie haben zweifellos eine Reihe wichtiger Anhaltspunkte ergeben, die zu weiteren Arbeiten reiche Anregung boten. Die Art der angewandten Methodik war jedoch äußerst unvollkommen, so daß die Ergebnisse vom heutigen Standpunkte aus nicht allzu hoch zu werten sind. Erst sorgfältig ausgearbeitete Mikromethoden versetzten uns in die Lage, zuverlässige quantitative Untersuchungen anzustellen. In der neueren Zeit hat sich Delaunay in einer Reihe von Veröffentlichungen, die bis zum Jahre 1910 zurückreichen, mit einer systematischen Untersuchung des Eiweiß- und Exkretstoffwechsels verschiedener Wirbellosen weitgehend befaßt. Kurze Zeit nach Herausgabe einer Arbeit über den Exkretstoffwechsel der lungenatmenden Gastropoden (1926) erschien 1927 die erste vergleichende Betrachtung über die Ergebnisse, die er an einer großen Anzahl von Wirbellosen der verschiedensten Klassen erhalten hatte. Beschäftigte sich genannte Forschungsrichtung mit dem Exkretstoffwechsel, wie er im Tier unter normalen Bedingungen vor sich geht, ohne die Frage der Entstehung der einzelnen Stoffwechselprodukte zu berühren, so setzen sich neuere Untersucher auch mit diesen Fragen auseinander. Es war eine umfassende Vorarbeit und Kenntnis der bei Wirbellosen angewandten Methodik notwendig, ehe sich Sulima (1914) mit der Möglichkeit einer oxydativen oder synthetischen Harnsäurebildung bei *Aplysia* auseinandersetzen konnte. 1922 stellt Przylecki erstmalig quantitative Untersuchungen über die Genese der verschiedenen Stickstoffprodukte bei Wirbellosen an. In demselben Jahr gelingt es ihm, das Harnstoff abbauende Enzym, die „Urease", auch bei Wirbellosen aufzufinden und damit in die feineren Vorgänge des Exkretstoffwechsels einen Einblick zu gewinnen.

Während die bisher angeführten Autoren in der Hauptsache bestrebt waren, über den Exkretstoffwechsel der Wirbellosen von verschiedenen Gesichtspunkten aus einen annähernden Überblick zu gewinnen, sammelte G. Wolf (1933) die älteren über den Stoffwechsel von *Helix pomatia* bekannten Tatsachen und unterwarf dieses Tier einer genauen qualitativen und quantitativen Untersuchung. Um die Kenntnisse über den Exkretstoffwechsel der Mollusken zu bereichern, vor allen Dingen um denselben eine breitere Grundlage zu geben, veranlaßte mich

Herr Prof. Dr. Heidermanns, hierüber eine genauere quantitative Untersuchung betreffs Exkretverteilung in den wichtigsten Organen, Exkretabscheidung und Exkretbildung an mehreren Molluskengruppen anzustellen, die auch die ökologischen Lebensbedingungen, unter denen die Tiere sich befinden, berücksichtigen sollte. Hierbei sollte vor allem festgestellt werden, ob der Exkretstoffwechsel einer Art durch ihre systematische Stellung oder durch ihren ökologischen Lebensstandard bestimmt wird.

Ich fühle mich meinem Lehrer, dem Direktor des Zoologischen Instituts, Herrn Prof. Dr. A. Reichensperger sowie Herrn Prof. Dr. C. Heidermanns zu tiefsten Dank verpflichtet. Sie haben mit größtem Interesse den Fortgang der Arbeit verfolgt und im Verlauf derselben viele Anregungen gegeben, die sich erfolgreich ausgestalten ließen. Meinen herzlichen Dank möchte ich auch Herrn Privatdozent Dr. Wurmbach sowie Herrn Dr. Lehmensick für viele fördernde Ratschläge aussprechen. Die Untersuchungen wurden wesentlich unterstützt aus Mitteln, welche die deutsche Forschungsgemeinschaft Herrn Prof. C. Heidermanns zur Verfügung gestellt hatte.

II. Allgemeine Methodik.

Zu meinen Versuchen wurden Mollusken von sieben verschiedenen Gattungen verwandt: zwei Lamellibranchier (*Unio*, *Mytilus*) und fünf Gastropoden (*Paludina*, *Littorina*, *Limnaea*, *Arion*, *Helix*). Mit Ausnahme von *Arion* und *Helix* sind sämtliche Tiere Wasserbewohner. *Unio* sowie *Paludina* sind Süß-, *Mytilus* und *Littorina* Seewassertiere.

Außer bei *Mytilus* und *Arion* wurden die Untersuchungen bei jedem Tier zu den verschiedensten Jahreszeiten durchgeführt. Die Übergangszeit vom Sommer über den Herbst bis zum Winter wurde einer genaueren Bearbeitung unterzogen, da hier mit Änderung der Jahreszeit auch besondere Vorgänge im Stoffwechsel zu erwarten waren. Bei jedem Tier wurden die Stickstoffprodukte der Mitteldarmdrüse, des Nephridiums und des Exkrets analysiert sowie der gesamte Exkretstoffwechsel im Wandel der Jahreszeiten verfolgt. Da die im hiesigen Zoologischen Institut ausgeführten Untersuchungen von G. Wolf sowie die Arbeiten Delaunays die wesentlichen Vorgänge im Exkretstoffwechsel bei *Helix* geklärt haben, genügte es, daß ich mich hier auf einige Autodigestionsexperimente beschränkte. Bei *Paludina* wurden jedoch die Eiweißdrüse und ebenso bei *Mytilus* die Kiemen noch einer besonderen Analyse unterzogen.

Herstellung von Organextrakten.

Im Laufe der Untersuchungen wurden Organextrakte vom Nephridium, von der Mitteldarm- und Eiweißdrüse hergestellt, im wesentlichem nach der Methode von Delaunay. Einige Verbesserungen, die z. T. auf einer gewissen Tradition des hiesigen Instituts bei diesen Arbeitsmethoden, andererseits auf der Benutzung einer Enteiweißungsmethode nach Folin beruhen, erwiesen sich als vorteilhaft. Ausgetretene Gewebesäfte wurden mit Fließpapier abgesaugt und eine ausreichende Menge des zu untersuchenden Organs zur Bestimmung gewogen. Die Gewebe wurden mit säuregereinigtem und geglühtem Seesand (pro analysi Merck) in einem Mörser zerrieben und mit kleinen Portionen kochenden Aqua dest. solange extrahiert und

wieder dekantiert, bis der letzte wässerige Auszug keine löslichen Stickstoffexkretprodukte mehr enthielt (Harnsäure).

Delaunay enteiweißte mit 20 %iger Trichloressigsäure, während ich mich einer neueren Methode von Folin bediente. 6 g Natriumwolframat und 15 g wasserfreies Natriumsulfat wurden in einem Liter Wasser gelöst, sodann nicht $^2/_3$, sondern $^1/_3$ normale H_2SO_4 verwandt. Zu einer bestimmten Menge Organextrakt in einem der Größe nach geeigneten Meßkolben wurde dieselbe Menge Natriumwolframatsulfatgemisch und außerdem $^1/_3$ n H_2SO_4 hinzugegeben und zwar meist $^1/_3$ von der Menge des benötigten Gemisches, wobei nicht so schematisch verfahren wurde, denn es stellte sich im Laufe der Untersuchungen heraus, daß oftmals geringere Mengen zur Ausflockung des Eiweißes genügten. Unter Auffüllung auf ein geeignetes Volumen wurde die Ausflockung auf dem kochendem Wasserbad vorgenommen und sofort heiß filtriert. Das Filtrat war in der Regel klar und eiweißfrei. Wie mehrfach (Wolf, Leifert) festgestellt worden ist, ergibt die Enteiweißungsmethode mit Trichloressigsäure einen erhöhten Reststickstoffwert gegenüber der Enteiweißung mit Wolframatschwefelsäure. In zu stark saurer Lösung, wie sie bei Verwendung von $^2/_3$ n H_2SO_4 auftreten kann, fällt besonders etwa in höherer Konzentration vorhandene Harnsäure leicht aus. Bei Verwendung von $^1/_3$ n H_2SO_4 in Kombination mit Natriumwolframatsulfatgemisch in erprobten Mengen ließ sich diese Gefahr bei Mollusken vollkommen vermeiden. Bei einer gleichzeitig durchgeführten Untersuchung über den Harnsäuregehalt des Fettkörpers bei Lepidopteren während der Metamorphose wurde die Feststellung gemacht, daß es vorteilhaft ist, bei der Ausflockung überhaupt möglichst wenig Säure anzuwenden, da insbesondere hier soviel Harnsäure vorhanden war, daß dieselbe sehr leicht ausfiel.

Michaelis und Rona [1]) haben für Blut eine Enteiweißungsmethode angegeben, bei der die Ausflockung mit kolloidalem Eisenhydroxyd vorgenommen wird. Diese Methode erwies sich bei Mollusken, besonders bei den Lamellibranchiaten, bei denen mit den anderen angewandten Methoden oftmals Schwierigkeiten auftraten, als besonders vorteilhaft, da auf diese Weise immer biuretfreie, wasserklare Extrakte erhalten wurden.

Der mit heißem Aqua dest. gewonnene Organextrakt wurde in einen geeigneten Meßkolben gebracht, 10—20 ccm kolloidales Eisenhydroxyd, dann einige Kubikzentimeter einer 10 %igen Magnesiumsulfatlösung hinzugefügt und bis zur Marke aufgefüllt. Nach 10—15 Minuten setzt sich ein gelatinöser Niederschlag ab, der durch Filtrieren entfernt wird.

In den Fällen, bei denen — z. B. bei Analysierung der stickstoffhaltigen Exkretprodukte — infolge großer Flüssigkeitsmengen eine Erhöhung derselben durch Wolframatschwefelsäureenteiweißung nicht geeignet erschien, wurde, sofern überhaupt Eiweiß zugegen war, die Enteiweißung mit Trichloressigsäure oder kolloidalem Eisenhydroxyd vorgenommen.

Die Gewinnung der abgeschiedenen Stickstoffprodukte (Exkrete).

Die zu bearbeitenden Tiere wurden in ein der Größe nach geeignetes Glasgefäß gebracht, in dem die etwa ausgeschiedenen stickstoffhaltigen Exkretprodukte der späteren Untersuchung leicht zugänglich waren. Um den Tieren optimale Lebensbedingungen zu bieten, wurde unter Vorschaltung einer Waschflasche mit Schwefelsäure (zur Ammoniakentfernung) Luft hindurchgepreßt, der dann in einer nachgeschalteten Waschflasche mit Hilfe einer genau titrierten Menge n/50 H_2SO_4 etwa mitgerissenes Ammoniak wieder entzogen wurde. So wurde sämtliches Ammoniak restlos erfaßt. Süßwassertiere wurden nach sorgfältigstem Abspülen in Aqua dest. gebracht, welches 0,15 %iges Kochsalz enthielt. Meeresbewohner wurden während des Versuches in künstlichem Seewasser (aus Seesalz der biologischen Station Büsum hergestellt) gehalten, das bei jedesmaliger vorheriger Prüfung denselben Stickstoffwert ergab wie ein normaler Leerversuch.

1) Rona, Praktikum der Physiologischen Chemie, Berlin 1929.

Um eine Zersetzung der Harnsäure zu vermeiden, wurde zu dem Medium ein oder höchstens zwei Tropfen der Azetatpufferlösung zugefügt, deren Zusammensetzung bei Beschreibung der Harnstoffbestimmungsmethode angegeben ist.

Die Landtiere wurden auf den Boden des Gefäßes in eine dünne Wasserschicht gesetzt, die wiederum 0,15 % Kochsalz enthielt. Durch geeignete Absperrung wurden die Tiere gezwungen, auf dem Boden des Gefäßes zu verbleiben. Starb während des Versuches eines der Tiere aus irgendeinem Grund, so wurde der Versuch vollkommen neu aufgebaut und mit anderen restlos gesunden Tieren wiederholt.

Die Bestimmungsflüssigkeit wurde — wenn nötig — eingeengt, und gegebenenfalls Eiweiß entfernt. Die Tiere wurden durchschnittlich 12 Stunden, oft auch nur 7—8 Stunden, nie mehr als 20 Stunden in dem Gefäß belassen, um eine Zersetzung der Exkretprodukte nach Möglichkeit zu vermeiden. Unter Feststellung eines Mittelwertes für die Schalen wurde die Berechnung immer auf 100 g Weichteile durchgeführt und auf eine Einheit von 24 Stunden umgerechnet.

Quantitative Untersuchungen.

Die Reststickstoffbestimmung geschah nach dem Mikro-Kjeldahl-Verfahren (L. Pinkussen, p. 62). In einem Veraschungsofen wurden zu gleicher Zeit und unter gleichen Bedingungen jedesmal 6 Bestimmungen durchgeführt.

Die vergleichenden Betrachtungen von Blankenstein (1931) über die Bestimmung der Harnsäure im Blutserum lassen eine Kombination der Methode Thannhausers [1]) mit der schon beschriebenen Enteiweißung nach Folin (1930) am genauesten erscheinen. Thannhauser hat die Methode des Amerikaners Benedict (1922) etwas modifiziert, und ich habe sie in dieser Form für meine Bestimmungen an Mollusken übernommen. Es wurde eine Standardlösung benutzt, die sich nach Folin in einem Zeitraum von bis zu 5 Jahren unverändert erhält. Sie wurde folgendermaßen hergestellt: In einen 1-l-Meßkolben wurden genau 1000 mg Harnsäure eingewogen und in 150 ccm einer 0,6 g Li_2CO_3-Lösung bei 50—60° unter Schütteln aufgelöst. Nach Zufügen von 20 ccm Formalin und einigen Tropfen Methylorange wird die Flasche zur Hälfte mit Aqua dest. und nach Zugabe von 25 ccm n H_2SO_4 aus einer Pipette, bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung ist so gebrauchsfertig und enthält jetzt 1 mg Harnsäure pro Kubikzentimeter. Zum Gebrauch wird hiervon 1 ccm bis auf 250 ccm verdünnt.

Ich möchte darauf hinweisen, daß die hier gewählte Methode eine Reduktionsmethode ist, bei der man die quantitative Harnsäurebestimmung vielleicht als nicht ganz einwandfrei ansehen kann, da andere reduzierende Substanzen auch die Blaufärbung hervorrufen können (Fujiwara Hidekatsu, 1933). Hiergegen sprechen zahlreiche Befunde an verschiedenen Mollusken, wo die Harnsäure in verschiedener Weise nachgewiesen wurde. Ich hebe einige für mich besonders in Frage kommende Ergebnisse hervor. Dies sind vor allem die Versuche von Leydig (1850) sowie die von Quast (1924), bei denen ersterer die Harnsäure bei *Paludina* nachwies und letzterer bei den nahe verwandten Prosobranchiaten *Cyclostoma elegans* mit der Methode nach Salkowski sowie einer Reihe von qualitativen Proben im Nephridium und in der Konkrementdrüse Harnsäure einwandfrei feststellen konnte. Dasselbe beweisen meine Ergebnisse bei den Lamellibranchiaten, wo ich nach Feststellung des Vorhandenseins von geringen Mengen Harnsäure in der Mitteldarmdrüse sowohl einen Abbau wie eine Synthese der Harnsäure im Autodigestionsversuch mit der angewandten Harnsäurebestimmungsmethode feststellte. Meine Versuche bei *Paludina* zeigen ferner eindeutig, daß die quantitativen Harnsäurewerte zumindestens ein Stickstoffprodukt darstellen, da der Rest-N-Wert den sehr großen Harnsäure-N immer in angemessenem Abstande deckt.

Die Bestimmung des Ammoniaks erfolgte nach L. Pinkussen (p. 55). Es ließen sich mit Hilfe einer von mir zusammengestellten Apparatur 6 Bestimmungen zu gleicher Zeit ausführen, welches den Vorteil bot, daß die Einzelbestimmungen einer Serie während des Versuches unter genau gleichen Bedingungen standen.

1) Thannhauser, Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten, 1929.

Die Bestimmung des Harnstoffes wurde nach der Ureasemethode ausgeführt (Pinkussen, p. 55).

Vor Zugabe des Fermentes wird die zu untersuchende Lösung mit einem Tropfen Azetatpuffer versetzt, der von O. Folin und A. Svedberg (1930) empfohlen wird. 15 g krist. Natriumazetat wird in einem 100 ccm fassenden Meßkolben in 50—75 ccm Wasser gelöst. Nach Zugabe von 1 ccm etwa 90%iger Essigsäure wird auf 100 ccm aufgefüllt. Diese Pufferung erweist sich bei der Hydrolyse des Harnstoffs als zweckmäßiger als diejenige mit Mono- und Dinatriumphosphat wie Krebs und Henseleit (1932) näher begründen. Wieder wurden immer 6 Versuche in einer Serie durchgeführt. Aus dem bestimmten Harnstoffstickstoff kann man durch Multiplikation mit 2,143 den Harnstoffwert errechnen.

Die Urease wird als „Ureasepapier" (Folin) benutzt. Die Herstellung des Ureasepapiers geschieht wie folgt:

In einem 250 ccm Erlenmeyer-Kolben wird 30 g Sojabohnenmehl (Merck) und 100 ccm 29%iger Alkohol hineingegeben. 1 ccm der oben beschriebenen Azetatpufferlösung wird hinzugefügt und die gesamte Lösung in einer Schüttelapparatur 15 Minuten belassen, und sodann $^1/_4$ Stunde (bei 5000 Touren) zentrifugiert. Der Extrakt wird sofort in dickeres Filtrierpapier (Schleicher und Schüll No. 595) aufgesogen und zum Trocknen windgeschützt aufgehängt, da Luftströmungen das Ferment — solange noch Wasser zugegen ist — zu zerstören scheinen. Die trockenen Streifen werden in Stücke von 1 cm Breite und 2,5 cm Länge geschnitten und in verschlossenen Flaschen aufbewahrt. Das Papier bleibt so monatelang verwendungsfähig. Das Enzym wird zwar im Laufe der Zeit fester an das Filtrierpapier adsorbiert, läßt sich jedoch durch ausreichendes Schütteln bei der Digestion in unverminderter Stärke wirksam machen, so daß die Hydrolyse des Harnstoffs quantitativ verläuft.

Die Bestimmung der Aminosäuren erfolgte kolorimetrisch nach Folin sowie gasvolumetrisch nach van Slyke (nach Angaben von Rona, 1929).

Die Bestimmung der freien Purine wurde im Prinzip nach einer Methode von Thannhauser und Czionczer (für Blutserum) ausgeführt (vgl. Angaben in Rona, 1929). Es sei als kleine technische Besonderheit erwähnt, daß der Kjeldahl-Kolben mit einem Schliffdeckel und einem seitlichen gebogenen bauchigen Ansatz versehen wurde, um ein Herausspritzen von Substanz, wie es bei diesen Bestimmungen leicht geschieht, zu vermeiden.

III. Quantitative Untersuchungen über die Zusammensetzung des Reststickstoffs.

A. Lamellibranchiata.

Aus der vorhandenen Literatur über die Lamellibranchiaten möchte ich nur einzelne wichtige Ergebnisse, die sich mit meiner Arbeit insbesonders der hierin eingeschlagenen Richtung berühren, kurz erwähnen. In der Mitte und zu Ende des vorigen Jahrhunderts durchgeführte Untersuchungen vermochten über das Vorkommen von Harnsäure und Harnstoff bei Lamellibranchiaten keinerlei sicheren Aufschluß zu geben, da eine ganze Anzahl von Arbeiten — wohl infolge wenig ausgearbeiteter Methoden — die widersprechendsten Ergebnisse zeitigten. Auf Grund einer primitiven Methodik halten de Lacaze-Duthiers und Riche (1855) bei zwei Vertretern der Lamellibranchiaten, nämlich in den Nephridien von *Lutraria solenoides* und *Mactra stultorum* die Anwesenheit von Harnsäure für erwiesen. Griffiths und Follows (1885) wollen dann auch in dem

Bojanusschen Organ von *Anodonta* Harnsäure festgestellt haben. Jedoch letzteres Resultat wird schon von v. Fürth (1903) sehr stark in Zweifel gezogen. Nephridialextrakte von zahlreichen Muschelarten, darunter auch von *Anodonta*, *Unio* und *Mytilus*, wurden vielfach untersucht und ich selbst möchte mich auf Grund meiner Versuche hier den Ansichten von Voit (1860), Letellier (1877) und Griesbach (1887) anschließen, die in den Nephridien der von ihnen untersuchten Arten niemals Harnsäure festgestellt haben. Bei 50 ganz verarbeiteten *Mytilus*-Exemplaren ergab die Murexidprobe ebenfalls keine Harnsäure (Marchal, 1889). Dieselben Resultate hat auch Przylecki bei zermahlenem Gewebe von *Anodonta* und *Mya* erzielt. Jedoch konnte ich bei *Unio* und *Mytilus* — im Gegensatz zu den Ergebnissen vieler Autoren bei einer großen Anzahl Individuen verschiedener Species von Meeres- und Süßwassermuscheln — in der Mitteldarmdrüse Harnsäure einwandfrei nachweisen [1]). Weder in den Nephridien noch im Exkret war dieselbe vorhanden.

In bezug auf das Vorhandensein von Harnstoff bei Acephalen sei auf das Hauptresultat von Letellier an *Mytilus*, *Anodonta* und *Cardium* verwiesen, nach dessen Meinung der Harnstoff in der Nephridialflüssigkeit der Muschel die Harnsäure vertritt. Auch Griffiths und Follows wollen ihn bei ihren Untersuchungen in Nephridialextrakten von *Anodonta* in Form von oxalsaurem Harnstoff identifiziert haben. Krukenberg (1880) fand Harnstoff in der Mitteldarmdrüse von *Arca* und *Mytilus*. Strohl (1924) glaubt dieses Ergebnis auf alle Lamellibranchiaten ausdehnen zu dürfen. Mir erscheint vorerst diese Verallgemeinerung als zu weitgehend, bevor nicht eine ganze Anzahl weiterer Species mit Hilfe der neueren Mikromethodik untersucht ist. Jedoch möchte ich schon hier erwähnen, daß ich auf Grund meiner Befunde allen Angaben über eine wesentliche Harnstoffabscheidung sehr skeptisch gegenüberstehe.

Die Befunde in bezug auf Purine sind wenig zahlreich; Krukenberg (1882) vermißt bei *Pinna* Guanin, Voit (1860) bei *Pedunculus* Guanin und Xanthin. Turchini (1923) beobachtete in den Nephridien von *Mya arenaria* kleine Purinkonkremente.

Die Anwesenheit von Ammoniak wurde von Przylecki und Delaunay in neuerer Zeit, von letzterem auch das Vorhandensein von Aminosäuren bei Lamellibranchiaten mit quantitativen Me-

1) Dieses Ergebnis bestätigt auch Delaunay für *Mya arenaria*, *Gryphoea angulata* und *Mytilus edulis*.

thoden sichergestellt. Delaunay kommt in seinen Untersuchungen an *Mya arenaria*, *Gryphoea angulata* und *Mytilus edulis* zu dem Schluß, daß Ammoniak reichlich von ihnen abgeschieden wird.

1. *Unio pictorum* L.

Es wurden gesunde und erwachsene Tiere aus den Bächen der näheren Umgebung von Bonn gesammelt und während des Sommers in einem großen Freilandbecken gehalten. Meist geschah die Bearbeitung sofort nach Erhalt des Materials, so daß die Tiere nur ganz kurze Zeit unter diesen künstlichen — wenn auch den natürlichen durch Einbringen von Sand und dauernde Frischwasserzufuhr — möglichst angeglichenen Bedingungen lebten. Im Winter wurden die Tiere in großen Behältern unter sonst genau denselben Bedingungen wie in Freilandbecken, jetzt jedoch im Warmaquarium des Instituts gehalten. Die „Sommertiere" kamen Ende Juli und Anfang August, in den darauffolgenden Monaten die „Übergangstiere" und erst Ende Dezember / Anfang Januar die „Wintertiere" zur Bearbeitung.

Es wurde für jede Analyse 5—10 g Mitteldarmdrüse benötigt. Die Zahlenwerte zeigt Tabelle 1 (a). Um die Einwirkung des Hungerns festzustellen, wurde eine Serie Tiere nach Ablauf zweier Monate analysiert. Die Ergebnisse der Untersuchungen sind folgende: Der niedrige Wert für den Rest-N im Gegensatz zu den Schnecken weist auf einen bei Acephalen sehr trägen Stoffwechsel hin, der im Winter noch weiter sehr stark absinkt. Auch durch Hungern kann der Stoffwechsel herabgesetzt werden bis fast auf den Stand des Winterstoffwechsels. Das starke Ansteigen des Amino-N (82 % des Rest-N) weist auf den dann vorhandenen reinen Eiweißstoffwechsel hin, gleichzeitig ein Zeichen, daß unter normalen Verhältnissen der Eiweißstoffwechsel von viel geringerer Bedeutung ist. Harnsäure ist in der frischen Mitteldarmdrüse, wenn auch in geringen Mengen, vorhanden. Die Fähigkeit zu Harnsäurebildung bei der Autodigestion (S. 484) weist auf das Vorhandensein harnsäurebildender Fermente im inneren Stoffwechsel hin. Den Beträgen an Harnstoff-N, Ammoniak-N und Harnsäure-N, die, wie klar erkenntlich, im Anteil am Rest-N eine untergeordnete Rolle spielen, stehen Purin-N und Amino-N in großen Mengen entgegen. Bei Hungertieren waren keine freien Purine aufzufinden, während normalerweise im Sommer 10 % vorhanden, im Winter ein Anstieg bis auf 30,8 % zu verzeichnen ist.

Tabelle 1.

a) Mitteldarmdrüse	*Unio pictorum*							
	Sommer				Winter		Hunger	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	148,4	—	147,7	—	79,7	—	96,7	—
Harnstoff-N	—	—	1,8	1,2	2,4	3,0	—	—
Ammoniak-N	9,9	6,6	3,2	2,1	7,3	9,2	4,3	4,4
Harnsäure-N	3,4	2,3	3,3	2,2	1,2	1,5	1,4	1,2
Purin-N	—	—	14,7	10,0	24,6	30,8	—	—
Amino-N	38,4	25,7	62,0	41,9	30,0	37.6	79,5	82,1
Nicht dos. N	96,8	65,2	62,7	42,2	14,0	17,7	11,4	11,8
b) Nephridium	Sommer				Winter			
Rest-N	56,4	—	63,3	—	74,6	—		
Harnstoff-N	—	—	—	—	19,3	25,8		
Ammoniak-N	4,2	7,4	2,2	3,5	7,0	9,4		
Harnsäure-N	—	—	—	—	—	—		
Purin-N	—	—	5,5	8,8	9,5	12,8		
Amino-N	—	—	35,8	56,6	38,3	51,3		
Nicht dos. N	52,2	92,5	19,6	30,9	0,4	0,5		
c) Exkretion für 24 Stdn.	Sommer		Übergang		Winter			
Rest-N	5,8	—	0,9	—	1,4	—		
Harnstoff-N	—	—	—	—	—	—		
Ammoniak-N	1,4	24,8	0,1	8,6	0,6	44,2		
Harnsäure-N	—	—	—	—	—	—		
Purin-N	—	—	0,3	34,7	0,2	20,0		
Amino-N	—	—	0,1	15,2	0,4	28,5		
Nicht dos. N	4,3	75,1	0,4	41,3	0,1	6,1		

Im Nephridium ist keine Harnsäure vorhanden. Harnstoff findet sich nur bei Wintertieren. Bei allen Rest-N-Fraktionen, mit Ausnahme des Amino-N, tritt im Winter eine Erhöhung ein. Es scheint daher auch hier die Niere eine Speicherniere zu sein, da im Winter bei tiefer Temperatur die Abgabe der Exkrete anscheinend erschwert ist. Damit steht in Übereinstimmung, daß die Niere im Winter sichtlich an Volumen zunimmt.

Der Rest-N-Wert des Exkretes zeigt im Sommer einen Wert von 5,8 mg-%, in der Übergangszeit einen solchen von 0,92 mg-% und im Winter von 1,4 mg-%. In einem Versuch wurden die Sommertiere 24 Stunden lang im Eisschrank belassen, so daß sie sich in ihrem Stoffwechsel auf eine niedrige Temperatur von 1—2 Grad einstellen konnten. Sodann wurde das Versuchsgefäß mit der darin enthaltenen notwendigen Flüssigkeit auf die gleiche Temperatur gebracht und mit dem Versuch begonnen, der 6—12 Stunden dauerte.

Neben dem Purin-N mit 34,70 % des Rest-N-Wertes im Sommer und 20 % im Winter und Amino-N mit 15,2 % resp. 28,5 % stellt der Ammoniak-N die wichtigste Komponente dar. Er beträgt 24,8 % im Sommer, im Winter sogar 44,2 %. Przylecki fand bei *Anodonta*, daß normalerweise der Ammoniak-N 6,3 % des Gesamt-N ausmacht. Nach Zugabe geringer Mengen n/10 H_2SO_4 nahm sowohl der Gesamt-N als auch der Ammoniak-N beträchtlich zu, letzterer um 54 %. Przylecki möchte hier auf eine gewisse Säure-Basen-Korrelation zwischen Tier und Außenmedium schließen. Es besteht jedoch die Möglichkeit, daß durch Ansäuren des Versuchsmediums erhöhte Schleimabsonderung hervorgerufen wird, daß zu gleicher Zeit — bei der äußerst langen Versuchsdauer bis zu 72 Stunden — eine säurehydrolytische Spaltung der Schleimsubstanzen eingeleitet wird, bei welcher Ammoniak in größeren Mengen auftreten könnte. Im Exkret war Harnstoff in keiner Jahreszeit vorhanden, welches mit den Befunden im Nephridium, ausgenommen im Winter, in Einklang steht.

Die am Schluß dieser Arbeit zusammengestellte vergleichende Betrachtung über die verschiedenen untersuchten Tiere wird zu der Erkenntnis führen, daß die Ausnutzung der Eiweißkörper bei Mollusken zum mindesten als unvollkommen zu bezeichnen ist. Schon im Exkret bei *Unio* spricht der große Anteil von Amino-N für diese Tatsache (siehe S. 491).

2. *Mytilus edulis* L.

Die Tiere wurden von einer Bonner Fischhandlung bezogen und sogleich verarbeitet. Die Rest-N-Werte der Mitteldarmdrüse waren bei *Mytilus*, wie aus Tabelle 2 (a) ersichtlich ist, sehr hoch und schwankten in meinen Analysenergebnissen zwischen 423,62 und 597,63 mg-%, Werten, die beträchtlich unter denen von Delaunay bei *Mya arenaria* liegen (805 mg-%). Die Enteiweißung wurde bei meinen Versuchen nach zwei Methoden ausgeführt. Sowohl die Benutzung derjenigen von Folin als auch der Enteiweißungsmethode nach Michaelis und Rona mit kolloidalem $Fe(OH)_3$ ergab keine wesentlichen Differenzen. Da nur ein kleiner Teil des Rest-N-Wertes von mir aufgeklärt werden konnte, obwohl der Extrakt ganz einwandfrei kein Eiweiß mehr enthielt, wie ich mich mit geeigneten Proben überzeugen konnte, darf ich wohl die Vermutung aussprechen, daß es sich hier um Eiweißspaltprodukte handelt, die sehr wahrscheinlich zur Gruppe der abiureten Körper gehören.

Tabelle 2.

	Mytilus edulis							
a) Mitteldarmdrüse	1		2		3		4	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	423,6	—	569,2	—	532,0	—	597,6	—
Harnstoff-N	5,1	1,2	4,2	0,7	6,7	1,2	Spuren	—
Ammoniak-N	1,5	0,3	11,7	2,0	5,4	1,0	12,5	2,0
Harnsäure-N	2,0	0,4	1,9	0,3	2,0	0,3	1,5	0,2
Amino-N	38,4	9,0	48,3	8,4	42,3	7,9	106,2	17,7
Purin-N	17,3	4,1	13,3	2,3	7,4	1,4	14,5	2,4
Nicht dos.-N	359,1	84,9	489,5	86,1	468,0	88,1	462,7	77,5
b) Nephridium	1		2		3			
Rest-N	386,1	—	718,3	—	489,2	—		
Harnstoff-N	3,5	0,9	12,3	1,7	8,4	1,7		
Ammoniak-N	7,7	2,0	31,2	4,3	15,9	3,2		
Harnsäure-N	—	—	—	—	—	—		
Amino-N	104,6	27,1	67,1	9,3	81,5	16,6		
Purin-N	10,0	2,6	24,5	3,4	17,6	3,6		
Nicht dos.-N	260,1	67,2	583,0	81,1	365,6	74,8		
c) Exkretion für 24 Stdn.	1		2		3		Kiemen	
Rest-N	0,6	—	4,0	—	2,8	—	333,3	—
Harnstoff-N	Spuren	Spuren	—	—	—	—	—	—
Ammoniak-N	Spuren	Spuren	0,4	11,4	0,3	10,8	11,1	3,3
Harnsäure-N	—	—	—	—	—	—	—	—
Amino-N	0,1	20,6	0,7	17,1	1,0	35,5	100,0	29,9
Purin-N	Spuren	Spuren	0,5	13,1	0,4	16,0	25,1	7,5
Nicht dos.-N	0,3	—	2,4	58,1	1,0	37,5	197,0	59,1

Delaunay fand bei *Gryphoea angulata* und *Mytilus edulis* im Exkret vom Gesamttier sehr kleine Mengen von Harnsäure. In der Mitteldarmdrüse von *Mya* trat Blaufärbung deutlich hervor und er fand ungefähr 1 mg-% Harnsäure-N, während Sulima keinerlei Harnsäure feststellen konnte. Wenn meine Untersuchungen auch nicht am selben Objekt durchgeführt sind, so möchte ich die Ergebnisse Delaunays durchaus bestätigen. Der Harnsäurewert von *Mytilus* schwankt zwischen 4,64 und 6,21 mg-% (vgl. S. 463). Als wichtigstes Stickstoffprodukt möchte ich den Amino-N hervorheben, dem sich Purin-N anschließt, während Harnstoff und Ammoniak keine besondere Rolle spielen.

Wie bei der Mitteldarmdrüse ist auch im Nephridium wegen der Anwesenheit größerer Mengen höherer Eiweißspaltprodukte die Aufklärung des Rest-N-Wertes nur in geringem Umfang möglich. Der bei weitem wesentlichste Bestandteil ist der Amino-N wie auch

die Ergebnisse Delaunays für die Lamellibranchiaten erkennen lassen. Harnsäure war nach den Ergebnissen bei *Unio* auch hier nicht zu erwarten.

Einer besonderen Untersuchung wurden bei *Mytilus* die Kiemen unterzogen (Tab. 2, c). Der Rest-N-Wert betrug in diesem Fall 333,37 mg %. Das Hauptstickstoffprodukt stellt Amino-N mit 29,9 %, während Purin-N 7,5 und Ammoniak-N 3,3 % betrugen. Harnstoff als auch Harnsäure waren nicht vorhanden.

Unter den abgegebenen Exkretstoffen stehen wie bei *Unio* der Amino-N und der Purin-N an erster Stelle, während Harnsäure fehlt. Im wesentlichen haben wir also hier dieselben Verhältnisse wie bei *Unio*. Als Schalenmittelwert wurden bei der Umrechnung der Ergebnisse 54 % vom Gesamtgewicht der untersuchten Tiere in Abzug gebracht.

B. Gastropoda.

Eine ausführliche Zusammenstellung der Literatur über den Exkretstoffwechsel der Gastropoden findet sich bei G. Wolf (1933). Untersuchungen über *Littorina* sind mir nicht bekannt. Vergleichbare Ergebnisse könnten nur die Arbeiten von Sulima und Delaunay ergeben, die ebenfalls an einer Meeresschnecke, nämlich *Aplysia* gewonnen sind. Ausführlich ist nur *Arion empiricorum* von Delaunay einer Untersuchung unterzogen worden. Die Harnstoffbefunde Delaunays sind von den meinigen insofern grundsätzlich verschieden, als es mir im Exkret mit der sonst in den allermeisten Fällen sehr zuverlässigen Ureasemethode nur in einem einzigen Fall gelungen ist — und dann nur sehr wenig — Harnstoff nachzuweisen.

Prosobranchiata.

Die Vielseitigkeit des Baues der Gastropoden, die mit Hilfe der verschiedenartig modifizierten Atmungsorgane sowohl auf dem Land als auch im Wasser gleichgute Lebensbedingungen finden, läßt auch Unterschiede in ihrem Stoffwechsel vermuten. Als primäre Wasserbewohner wurden zwei Prosobranchiaten, von denen *Paludina vivipara* in süßen Binnengewässern, *Littorina littorea* im Meere, an der Ufer- und Gezeitenzone vorkommt, verglichen.

1. *Paludina (Vivipara) vivipara.*

Die zur Untersuchung gelangenden Tiere stammten aus der Umgebung von Marburg (Lahn) und Berlin und wurden meist sofort nach der Ankunft — oder nur ganz kurzer Gefangenschaft in großen

Tabelle 3.

a) Mitteldarmdrüse	*Paludina vivipara*							
	Sommer		Anfang Überg.		Ende Überg.		Winter	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	469,2	—	350,0	—	268,9	—	285,6	—
Harnstoff-N	15,0	3,3	—	—	—	—	—	—
Ammoniak-N	6,2	1,2	7,2	2,0	9,3	3,4	4,3	1,5
Harnsäure-N	298,4	60,0	128,3	36,6	109,2	40,6	143,3	50,1
Purin-N	—	—	—	—	9,7	3,6	—	—
Amino-N	—	—	72,1	20,6	60,0	22,3	35,0	12,7
Nicht dos.-N	176,6	35,5	142,2	40,6	80,5	29,9	102,9	35,5
b) Nephridium	**Sommer**		**Anfang Überg.**		**Ende Überg.**		**Winter**	
Rest-N	193,9	—	269,5	—	200,7	—	317,6	—
Harnstoff-N	3,3	1,7	—	—	—	—	4,3	1,3
Ammoniak-N	5,9	3,0	11,4	4,2	1,2	0,6	8,6	2,7
Harnsäure-N	95,3	49,1	155,9	57,8	114,1	56,8	176,2	55,4
Purin-N	—	—	—	—	—	—	—	—
Amino-N	35,1	18,1	52,8	19,2	30,1	15,6	96,1	30,1
Nicht dos.-N	54,2	27,9	49,2	18,6	55,1	26,8	32,3	10,2
c) Eiweißdrüse	**Sommer**		**Übergang**		**Winter**			
Rest-N	453,7	—	238,0	—	259,5	—		
Harnstoff-N	6,4	1,4	7,0	2,9	1,7	0,6		
Ammoniak-N	21,6	4,7	—	—	2,5	0,9		
Harnsäure-N	77,0	16,9	104,1	43,7	100,6	38,7		
Purin-N	—	—	—	—	—	—		
Amino-N	—	—	55,4	23,2	49,3	19,0		
Nicht dos.-N	349,6	76,8	71,4	30,0	105,2	40,5		
d) Exkretion für 24 Stdn.	**Sommer**		**Winter**					
Rest-N	2,7	—	1,4	—				
Harnstoff-N	0,2	8,1	0,2	13,1				
Ammoniak-N	0,1	4,4	0,2	13,1				
Harnsäure-N	0,2	6,6	0,1	10,4				
Purin-N	0,8	29,5	0,4	31,2				
Amino-N	0,7	27,3	0,4	29,1				
Nicht dos.-N	0,6	23,9	—	2,8				

Freilandbecken — verarbeitet. Ein wesentlicher Unterschied in den Ergebnissen der von zwei Fundstellen stammenden Tieren ist nirgends festgestellt worden. Es wurden die Sommertiere im August und Anfang September analysiert; in der Übergangszeit vom Sommer zum Winter wurden dann anschließend mehrere Serien bearbeitet und die Wintertiere im Dezember untersucht.

Sulima fand bei dem Opisthobranchier *Aplysia* in der Mitteldarmdrüse im Verhältnis zu anderen Exkretstoffen Harnsäure in

solcher Menge, daß er ihre Bedeutung im Eiweißstoffwechsel besonders hervorhebt. Delaunay stellte bei diesen Tieren im Exkret Harnsäure prozentual nur in geringer Menge fest und gleichzeitig auch, daß der Harnsäurespiegel in sämtlichen Organen des Tieres relativ hoch ist; also die Harnsäure nur sehr langsam — vielleicht periodisch — ausgeschieden wird. Diese geringen Mengen Harnsäure, die im Exkret erscheinen, stehen in keinem Verhältnis zu dem hohen Harnsäuregehalt des ganzen Tieres. Ich möchte daher die Vermutung aussprechen — irgendwelche weiteren Anhaltspunkte liegen nicht vor —, daß, wenn auch nicht alle Harnsäure, so jedoch vielleicht ein Teil derselben im Tier zur Bildung irgendwelcher anderer Stoffe verwandt wird. Ich denke vor allen Dingen an die Pigmente im Mantel, der Schale und auch die Pigmentflecke im Nephridium. Wieland und seine Mitarbeiter (1933) haben, um ein ähnliches Beispiel anzuführen, bei *Gonepterx rhamni* und *Pieris brassicae* in den Flügelpigmenten einige bisher unbekannte organische Körper isoliert, die Pterine, die vielleicht mit Harnsäure nahe verwandt sind. Sie stellen wahrscheinlich bei diesen Tieren Stoffwechselendprodukte dar, deren Bildung bei den Pigmenten von Paludina und den Gastropoden ebenfalls möglich wäre.

Diese wie auch die Resultate an den anderen Tieren zeigen starke jahreszeitlich bedingte Schwankungen, wobei der Übergangszeit zwischen Sommer und Winter eine besondere Bedeutung zukommt. So verschiedenartig die Auswirkungen dieser Übergangszeit auch im einzelnen sind, so lassen sie sich unter dem Gesichtspunkt betrachten, daß die Umstellungen im Stoffwechsel des Organismus sich bereits geltend machen, ehe die Außenfaktoren voll zur Geltung kommen. Es sei auch hier gedacht an Erschöpfungs- bzw. Erholungszustände nach der Fortpflanzungszeit u. a. Es sei in diesem Zusammenhange auf die Untersuchungen Nagels (1935) hinzuweisen, der feststellte, daß die vegetative Tonuslage im Frosch weitgehend von der Temperatur abhängig ist, und daß die Übergangszeit dabei eine Sonderstellung einnimmt.

Von Sommer zum Winter nimmt der Rest-N-Wert in Mitteldarmdrüse und Eiweißdrüse stark ab, ein Ausdruck herabgesetzten Stoffwechsels. In der Niere dagegen steigt der Rest-N-Wert zum Winter an, ein Ausdruck der allgemeinen Tendenz zur Speicherung bei Mollusken (oder einer erschwerten Abscheidung).

Die Harnsäure spielt unter der Rest-N-Fraktion die Hauptrolle auch bei diesem Süßwasserbewohner. Ihre Bedeutung für den reinen

Stoffwechsel geht daraus hervor, daß sie in der Mitteldarmdrüse 60 % des Rest-N ausmacht und daß sie in der Eiweißdrüse gerade zur Zeit der Herabsetzung ihres sonstigen Stoffwechsels stark gespeichert wird (Zunahme um mehr als 100 %). Die Harnsäurespeicherung der Eiweißdrüse ist sogar noch größer als in der Niere. Quast hat 1924 bei seiner Untersuchung an der Konkrementendrüse und am Nephridium von *Cyclostoma elegans* den Beweis erbracht, daß hier eine Speicherung von Harnsäure und verschiedener anderer Purinkörper stattfindet. Wenn auch die Untersuchungen hierüber, da keine quantitativen Bestimmungen vorliegen, ziemlich ungenau sind, so lassen sie doch den Schluß zu, daß die landbewohnende Prosobranchiate *Cyclostoma elegans* im Exkretstoffwechsel dem Süßwasserbewohner *Paludina vivipara* sehr nahesteht.

Auch in der Niere macht die Harnsäure den wesentlichsten Teil des Rest-N aus. Nächst der Harnsäure ist der Amino-N in allen erwähnten Organen am stärksten vertreten. In der Niere steigt ihr Gehalt zum Winter ungefähr auf das Doppelte, auf 30 %, während er in Mitteldarmdrüse und Eiweißdrüse sinkt, als Zeichen herabgesetzten Stoffwechsels.

Purin-N war in der Niere nicht nachzuweisen. Das schließt aber nicht aus, daß er trotzdem in geringer Menge vorhanden ist, da die Bestimmungsmethode neben viel Harnsäure für Purin ungenau ist. Hervorzuheben ist die starke Überschwemmung des gesamten Organismus mit Harnsäure und ihre Speicherung im Winter, vor allen Dingen in der Eiweißdrüse, trotzdem das Tier nicht, wie die Landschnecken, sich einkapselt, sondern die Möglichkeit der Abgabe gegeben ist. Berücksichtigt man ferner, daß unter den nach außen abgegebenen Exkreten die Harnsäure verhältnismäßig gering vertreten ist, so ist das eine Stütze der Anschauung, daß die Harnsäure im inneren Stoffwechsel noch eine andere Verwendung findet (vgl. S. 482). Der mengenmäßig am stärksten an der Abscheidung beteiligte Stoff ist Amino-N, während die Harnsäure sogar hinter Harnstoff und Ammoniak steht.

2. *Littorina littorea* L.

Die von Helgoland bezogenen Tiere wurden in durchlüfteten Seewasser-Aquarien gehalten. In dem großen kellerartigen Kaltaquarium des Zoologischen Instituts machte sich der Wintereinfluß nur durch eine geringe Temperatursenkung bemerkbar, trotzdem läßt die Tabelle 4 (a, b u. c) eine deutlich ausgeprägte

Tabelle 4.

a) Mitteldarmdrüse	*Littorina littorea* Sommer		Übergang		Winter		*Aplysia*[1])	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	587,3	—	557,2	—	512,4	—	656,0	—
Harnstoff-N	4,0	0,6	10,0	1,8	—	—	6,5	0,9
Ammoniak-N	8,6	1,4	21,2	3,8	38,3	7,4	15,0	2,3
Harnsäure-N	8,6	1,4	10,0	1,7	5,6	1,1	35,6	5,3
Purin-N	—	—	35,9	6,4	31,5	6,1	60,5	9,2
Amino-N	—	—	197,9	35,5	199,4	38,9	90,0	14,2
Nicht dos.-N	565,8	96,3	281,9	50,5	237,4	46,2	448,3	67,9
b) Nephridium	Sommer		Übergang		Winter			
Rest-N	281,2	—	502,8	—	554,4	—		
Harnstoff-N	7,3	2,6	17,7	3.5	—	—		
Ammoniak-N	6,7	2,3	4,9	0,9	22,4	4,4		
Harnsäure-N	26,2	9,3	55,2	10,9	44,5	8,0		
Purin-N	6.4	2,2	4,6	0,9	—	—		
Amino-N	9,5	3,7	65,4	13,0	97,5	17,6		
Nicht dos.-N	224,9	79,6	354,8	70,5	390,0	69,7		
c) Exkretion für 24 Stdn.	Sommer		Übergang		Winter			
Rest-N	67,0	—	33.6	—	23,7	—		
Harnstoff-N	7,2	12,6	3,9	11,9	0,4	1,9		
Ammoniak-N	22,7	39,9	17,8	53,2	14,5	61,1		
Harnsäure-N	0,5	0,8	0,4	1,2	0.3	1,1		
Purin-N	16,3	28,7	6,5	19,5	3,7	15,9		
Amino-N	3,8	6,7	2,6	7,9	2,2	9,6		
Nicht dos.-N	6,3	11,0	2,0	6,1	2,4	10,4		

Saisonschwankung erkennen. Die Tiere blieben während des ganzen Winters in Bewegung und nahmen auch die ganze Zeit hindurch Nahrung auf.

In Tabelle 4 (a) habe ich zum Vergleich mit meinen Ergebnissen in Spalte 4 diejenigen von Delaunay an *Aplysia* aus zwei Werten errechnet und diesen Durchschnittswert eingesetzt. Von allen untersuchten Gastropoden wurde bei *Littorina* der höchste Rest-N-Wert in der Mitteldarmdrüse gefunden, der mit 587 mg-% im Sommer eine Abnahme bis auf 512 mg-% im Winter aufweist. Der Harnstoff-N schwankt zwischen 0 und 1,8 % und der Ammoniak-N steigt vom Sommer zum Winter hin von 1,4—7,4 % gleichmäßig an. Andere Verhältnisse sind festzustellen für den Amino-N der mit

1) Die Werte für Harnstoff, Ammoniak und Harnsäure, sowie die für den Nicht dos.-N waren aus den angeführten Werten Delaunays errechnet.

35,5 und 38,9 % den Durchschnittswert Delaunays für *Aplysia* mit 14,2 % bedeutend übertrifft. Nicht so weit auseinander liegen die Werte für den Purin-N, für den sich bei *Littorina* Werte von 6,4 und 6,1 % und bei *Aplysia* von 9,2 % ergeben.

Wenn auch, wie sich bei Vergleichen der Ergebnisse an der Mitteldarmdrüse dieser beiden Tiere ergibt, der Amino-N- und Harnsäure-N-Spiegel differieren, so ist ein prinzipieller Unterschied im Stoffwechsel dieser beiden systematisch nicht zusammengehörenden Meeresbewohner nicht vorhanden. Ganz andere Perspektiven ergeben sich jedoch beim Vergleich der Ergebnisse der Mitteldarmdrüsenanalyse bei dem im Süßwasser lebenden Prosobranchiaten *Paludina* mit demjenigen der Seewasserprosobranchiaten *Littorina*. Noch auffallender jedoch ist die Tatsache, daß bei dem Süßwasserbewohner ein ausgesprochener Harnsäurestoffwechsel auftritt, während derselbe bei *Littorina* eine vollkommen untergeordnete Rolle spielt. Zwei Meeresbewohner verschiedener systematischer Gruppen stehen in ihrem physiologischen Verhalten bedeutend näher zueinander als ein Meeres- und ein Süßwasserbewohner derselben systematischen Gruppe.

Das Nephridium von *Littorina* ist erst durch eine histologische Untersuchung als bläulich-violettes Organ mit Sicherheit festzustellen und daher schwer zu präparieren. Der Rest-N-Wert des Nephridiums (Tabelle 4 (b)) liegt im Sommer mit 289 mg-% ungefähr auf der Hälfte desjenigen der Mitteldarmdrüse. Da der Rest-N-Wert der Mitteldarmdrüse etwas absinkt (Stoffwechselsenkung), derjenige des Nephridiums um ca. 100 % steigt (Exkretanhäufung), steht er im Winter mit 554 mg-% jetzt über dem der Mitteldarmdrüse. Einen ähnlichen Anstieg finden wir auch bei dem Amino-N von 3,7 auf 17,6 %, nicht jedoch bei dem Harnsäure-N. Die absoluten Werte weisen jedoch auf eine deutliche Harnsäurespeicherung während des Winters hin (von 26 mg-% bis auf 44 mg-%). Auffallend sind die hohen Werte für den nicht dosierbaren Stickstoff (über 70 %).

Unter den Exkretprodukten spielt Ammoniak die Hauptrolle (bis 61 %), daneben werden geringe Mengen Harnstoff (12 %) und Purin (15—28 %) abgeschieden. Harnsäure verschwindet im Exkret fast vollständig. Damit stimmt der Exkretstoffwechsel von *Aplysia* fast vollständig überein, da Delaunay bei diesem Opisthobranchiaten ganz entsprechende Werte fand. Das ergänzt das oben Gesagte besonders im Hinblick darauf, daß bei dem Süßwasserprosobranchier *Paludina* die Ammoniakabscheidung stark zurücktritt.

Pulmonata.

3. *Limnaea stagnalis* L.

Im Juni und Juli wurden die Sommertiere — Ende Dezember bis Anfang Januar die Wintertiere — einer Bearbeitung unterzogen. Unterschiede waren bei den Tieren verschiedener Herkunft nicht festzustellen.

Wie bei den anderen Vertretern sehen wir auch hier eine Speicherung von Exkretstoffen in der Mitteldarmdrüse im Winter, bei herabgesetztem Stoffwechsel. Delaunay gibt für *Helix* ganz ähnliche Werte an, während die von Wolf stärker abweichen.

Von untergeordneter Bedeutung sind Harnstoff-N, Ammoniak-N und Harnsäure-N, wenn auch die prozentualen Werte im Wechsel der Jahreszeit sich innerhalb enger Grenzen halten. Zum Vergleich

Tabelle 5.

a) Mitteldarmdrüse	*Limnaea stagnalis*							
	Sommer						Winter	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	222,4	—	382,9	—	297,3	—	138,6	—
Harnstoff-N	8,4	3,7	12,6	3,2	10,0	3,3	5,4	3,9
Ammoniak-N	9,2	4,1	12,6	3,2	6,7	2,2	5,8	4,2
Harnsäure-N	4,5	2,0	4,2	1,1	6,3	2,1	2,3	1,7
Purin-N	—	—	75,8	19,8	—	—	24,9	17,9
Amino-N	—	—	110,3	28,8	—	—	36,9	26,6
Nicht dos.-N	200,2	90,0	167,2	43,7	274,1	92,1	63,0	45,4
b) Nephridium	Sommer				Winter			
Rest-N	275,4	—	323,1	—	691,7	—		
Harnstoff-N	8,7	3,1	9,6	2,9	6,1	0,8		
Ammoniak-N	6,2	2,2	23,0	7,1	4,9	0,7		
Harnsäure-N	131,1	47,6	133,7	41,3	387,8	56,0		
Purin-N	—	—	—	—	194,0	28,0		
Amino-N	—	—	—	—	55,5	8,0		
Nicht dos.-N	129,1	46,8	156,7	48,5	43,1	6,3		
c) Exkretion für 24 Stdn.	Zimmertemperatur				1—2 Grad			
	Sommer		Winter		Sommer			
Rest-N	15,9	—	5,1	—	7,9	—		
Harnstoff-N	2,2	13,8	0,4	9,0	2,8	36,3		
Ammoniak-N	6,7	42,3	Spuren	—	0,7	9,5		
Harnsäure-N	0,8	5,2	0,2	4,0	0,6	7,8		
Purin-N	—	—	1,4	27,2	—	—		
Amino-N	—	—	1,4	27,9	—	—		
Nicht dos.-N	6,1	38,5	1,6	31,6	3,6	46,2		

der Ergebnisse seien hinter den meinigen in Klammern diejenigen von Delaunay vermerkt. Harnstoff-N schwankt zwischen 3,0 und 3,2 % (1,4), Ammoniak zwischen 2,2 und 4,2 % (3,2). Harnsäure-N variiert zwischen 2,1% und 1,1% (5,6). Der Harnsäure-N bei *Arion* liegt ebenfalls auf annähernd gleicher Höhe. Im übrigen spielen wieder Purin-N und Amino-N eine bevorzugte Rolle, ersterer mit 19,8 % im Sommer, 17,9 % im Winter (19,6), letzterer mit 28,8 % im Sommer, 26,6 % im Winter (25,2). Bei *Limnaea stagnalis* sehen wir einen Pulmonaten des Süßwassers, der einem Landpulmonaten im Exkretstoffwechsel der Mitteldarmdrüse außerordentlich nahesteht. Auch *Arion* schließt sich diesem Wert mit ungefähr 35 % an. Es besteht also kein prinzipieller Unterschied zwischen den Ergebnissen der Mitteldarmdrüse von *Limnaea stagnalis* und *Helix pomatia.*

Der Harnsäuregehalt des Nephridiums ist sehr groß und im Winter gesteigert (von 47 auf 56 %) (vgl. *Paludina*, S. 471), daneben sind Purin-N mit 28 % und Amino-N mit 5 % vertreten.

Der Rest-N-Wert der Exkrete sinkt vom Sommer zum Winter von 16 % auf 5 %. Während der Harnstoff-N im Sommer 13,8 % beträgt und im Winter nur 9 %, ist im Kälteversuch bei 1—2° auffallend, daß er bis auf 36,3 % ansteigt, während der Ammoniakgehalt von 42 % auf 9,5 % fällt. Im normalen Winterversuch waren nur Spuren von Ammoniak-N vorhanden. Der Harnsäure-N bleibt einigermaßen konstant und stimmt mit dem Wert bei *Paludina* annähernd überein, ebenso ist dieselbe Feststellung zu machen für den Purin-N und Amino-N, die mit 27,2 % resp. 27,9 % vertreten sind.

Die Konvergenz der Verhältnisse in der Mitteldarmdrüse von *Limnaea* und *Helix* sowie die partielle Ähnlichkeit in den Ergebnissen von Nephridium und Exkret bei *Limnaea* und *Paludina* weist ersterer die mittlere Stufe in dem Übergang von einem primären Süßwasserbewohner zu einem ausgesprochenen landlebenden Mollusken an.

4. *Arion empiricorum* Fér.

Bei Beginn meiner Untersuchung über *Arion empiricorum* war mir nur bekannt, daß Delaunay (1927) über *Limax agrestis* gearbeitet hat. In den Biological Reviews Cambridge 1931 erwähnte er in einer Zusammenfassung dieselben Werte, die er für *Limax agrestis* angegeben hat unter dem Namen *Arion rufus.* Infolge der gerade in der Molluskenliteratur in verwirrender Menge auftretenden Synonyma möchte ich annehmen, daß es sich bei beiden Tieren um *Arion empiricorum* (*rufus*) gehandelt hat. Da meine Werte und diejenigen

Delaunays starke Abweichungen aufweisen, besteht jedoch immerhin noch die Möglichkeit, daß es sich um zwei verschiedene Tierarten handelt.

Große Schwierigkeiten stellten sich der Enteiweißung des Mitteldarmdrüsenextraktes entgegen, da der Extrakt alkalisch reagierte. Zunächst wurde nach Zugabe der erforderlichen Menge Wolframatsulfat-Gemisch durch vorsichtige tropfenweise Zugabe von 2 n H_2SO_4 neutralisiert. Erst jetzt wurde dann auf dem kochenden Wasserbad bei dem nötigen Säuregrad mit $^1/_3$ n H_2SO_4 die Fällung vorgenommen. Auf diese Weise wurde ein klarer, jedoch bernstein- bis orangegefärbter Extrakt erhalten. Bei der Harnsäurebestimmung trat infolge dieser Färbung bei Zugabe der Reagentien eine Mischfarbe, außerdem auch Niederschlagsbildung auf. Letztere wurde durch sofortiges Zentrifugieren entfernt.

Im Gegensatz zu den Werten Delaunays für Harnstoff-N (6,3 bzw. 9,8 %) fand ich sehr niedrige Werte, die an der Fehlergrenze liegen (0—1,9 %). Bei den Ammoniak-N-Werten war kein großer Unterschied festzustellen, da sich meine Werte mit 0,9 und 2,2 %, Delaunays mit 2,6 % in der Tabelle ausweisen. Die Zahlenwerte der Spalte 4 beziehen sich auf Extrakte, die aus Geweben genommen wurden, die 48 Stunden lang im Eisschrank bei —3° vollkommen durchfroren wurden. Eine Zersetzung der Gewebe, im Sinne einer Fäulnis, konnte bei dieser Temperatur und in diesem Zustand nicht stattfinden. Die Erhöhung des Harnsäure-N-Wertes, die in diesem Fall zugleich mit einer starken Abnahme des Amino-N auftritt, deutet darauf hin, daß hier Faktoren ausgeschaltet werden, die bei normaler Temperatur eine Harnsäurebildung über den normalen Spiegel hinaus unmöglich machen. Hier tritt uns also eine Harnsäurevermehrung im Autodigestionsversuch bei niedriger Temperatur entgegen.

Bei Betrachtung der Ergebnisse am Nephridium könnte der Verdacht, den ich in der Einleitung zu diesem Abschnitt äußerte, daß es sich bei der Bezeichnung *Limax agrestis* und *Arion empiricorum* um zwei verschiedene Tiere handelt, noch verstärkt werden. Leider hat Delaunay keine Rest-N-Werte angegeben. Meine Werte hierfür zeigen einen erheblichen Schwankungsbereich, der zum Teil auf Schwierigkeiten bei der Enteiweißung zurückzuführen sein könnte, denn schon äußerlich haften größere Mengen schleimiger Substanzen an diesem Organ. Dieser Umstand ist zu berücksichtigen bei der Beurteilung der Rest-N-Werte (Tab. 6(a)), die zwischen 411,91 und

Tabelle 6.

	Arion empiricorum							
a) Mitteldarmdrüse	1		2		3		4	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	354,8	—	314,4	—	303,2	—	316,4	—
Harnstoff-N	3,3	0,9	2,9	0,9	—	—	6,0	1,9
Ammoniak-N	6,6	1,8	2,9	0,9	6,9	2,2	4,9	1,5
Harnsäure-N	9,4	2,6	6,5	2,0	9,6	3,1	39,7	12,5
Purin-N	3,9	2,1	12,8	4,0	8,3	2,7	—	—
Amino-N	112,3	31,6	108,4	34,4	119,1	39,2	11,8	3,7
Nicht dos.-N	219,0	61,0	180,8	57,5	159,2	52,5	253,8	80,2
b) Nephridium	1		2		3			
Rest-N	411,9	—	881,1	—	582,4	—		
Harnstoff-N	—	—	—	—	—	—		
Ammoniak-N	12,6	3,0	16,4	1,8	78,4	13,4		
Harnsäure-N	129,3	31,4	225,4	25,5	153,3	26,3		
Purin-N	143,5	34,8	97,2	11,0	50,9	8,7		
Amino-N	31,2	7,5	42,1	4,7	46,4	7,9		
Nicht dos.-N	95,0	23,0	499,7	56,7	253,3	43,4		
c) Exkretion für 24 Stdn.	1		2		3		4	
Rest-N	15,4	—	26,5	—	21,7	—	27,3	—
Harnstoff-N	—	—	—	—	0,6	2,8	—	—
Ammoniak-N	1,5	9,9	2,6	9,8	—	—	1,9	7,1
Harnsäure-N	1,6	10,3	0,9	3,3	0,7	3,2	0,4	1,4
Purin-N	—	—	4,4	16,6	0,6	3,0	5,5	20,2
Amino-N	2,7	17,8	4,8	18,0	2,4	11,3	3,4	12,5
Nicht dos.-N	9,5	61,8	13,7	51,9	17,3	79,6	16,0	58,5

881,17 mg % liegen. Von entscheidender Wichtigkeit ist die Tatsache, daß im Nephridium niemals Harnstoff festgestellt werden konnte. 16 % des Rest-N werden jedoch von DELAUNAY allein für den Harnstoff-N angesetzt. Der Ammoniak-N schwankt ebenso wie der Rest-N-Wert innerhalb weiter Grenzen, nämlich zwischen 1,8 und 13,4, erreicht aber nie den Wert DELAUNAYS von 20 %. Mein Wert für Harnsäure-N liegt bei einer gewissen Konstanz bei 25,5 bis 31,4 %, somit 4—5 mal so hoch wie derjenige DELAUNAYS. Beim Purin-N sind Werte von 8,7—34,8 % zu verzeichnen. Amino-N variiert zwischen 4,7—7,9 %, liegt aber weit unterhalb des Wertes von DELAUNAY. Vielleicht handelt es sich in der Tabelle 6 von DELAUNAY um einen Druckfehler, denn die Addition der prozentualen Werte ergibt eine Aufteilung des Rest-N-Wertes, die über 100 % hinausgeht.

Bei den Exkretanalysen habe ich mich sehr bemüht, die Anwesenheit von Harnstoff-N festzustellen, da Delaunay gerade *Arion* immer anführt als eine Schnecke, die in großer Menge Harnstoff bis zu 80,3 % des Rest-N-Wertes ausscheidet. Ich kann hier die Werte Delaunays durchaus nicht bestätigen, denn ich konnte nur in einem Fall — und dann nur 2,8 % — Harnstoff-N nachweisen. In der Mitteldarmdrüse war wenig Harnstoff-N vorhanden, während er im Nephridium vollkommen fehlte. Aus diesem Grunde war aller Voraussicht nach auch im Exkret kein Harnstoff zu erwarten, wie es sich denn auch tatsächlich in den Versuchen, die in Tabelle 6(c) angeführt sind, herausgestellt hat. Delaunay bediente sich der Xanthydrolmethode in der Modifikation von Fosse, während ich die Ureasemethode benutzte. Ich möchte darauf hinweisen, daß die Xanthydrolmethode, wie aus den Versuchen von Heidermanns bei *Tubifex* hervorgeht, bei Evertebraten nicht ganz zuverlässig zu sein scheint, da der erhaltene Niederschlag des geforderten Dixanthylharnstoffes vor der Veraschung nicht die typische Kristallisationsform zeigte.

Die Tiere schieden im Laufe des Versuchs große Mengen Schleim ab, der einen relativ hohen nicht-dosierbaren-N bedingte. Der Rest-N-Wert lag zwischen 15,4 mg-% und 27,3 mg-%. In einem Versuch fiel Ammoniak-N restlos aus, während er sonst mit 7,1 sowie 9,8 und 9,9 % zu finden ist. Der Harnsäure-N und Purin-N ist größeren Schwankungen unterworfen, Amino-N weist konstantere Werte auf.

IV. Der Abbau der Harnsäure bei Autodigestion nach Harnsäurezusatz.

Durch eine Anzahl experimenteller Ergebnisse hat es sich herausgestellt, daß in den Organismus eingeführte Harnsäure bei den Säugetieren z. B. in mehr oder minder großem Umfang umgewandelt oder zersetzt wird. Das wesentliche Umwandlungsprodukt ist hier wohl vor allen Dingen das Allantoin, welches aus Harnsäure durch hydrolytische Spaltung entsteht. In der Tierleber und anderen Organen hat man ein uricolytisches Enzym, die Urikase, festgestellt, welches die Harnsäure unter Abgabe von CO_2 und unter Aufnahme von H_2O in Allantoin überführt. Weiterhin konnte Przylecki 1925 eine Allantoinase beim Frosch nachweisen, welche die Harnsäure, ähnlich dem Vorgang bei Säugetieren, in Harnstoff, Ammoniak und Oxalsäure spaltet.

Über den Stoffwechsel der Wirbellosen liegen nur wenige Arbeiten an Mollusken vor, von denen ich einige erwähnen möchte. Sulima (1914) hat in seinen Untersuchungen neben anderen Ergebnissen gefunden, daß in der Mitteldarmdrüse von *Helix* eine Abnahme der Harnsäure im Autodigestionsversuch am überlebenden Gewebe vor sich geht. Sodann hat Przylecki (1926) in Anlehnung an die bekannten Tatsachen bei Wirbeltieren, sowie unter Ausbau der Folgerungen Sulimas bei einer Anzahl Vertretern der verschiedensten Klassen der Wirbellosen Untersuchungen über das Vorkommen eines uricolytischen Fermentes ausgeführt. Leifert (1935) prüft auf die Anwesenheit eines uricolytischen Enzymes bei Puppen von *Antherea pernyi* und

bestätigt hier für die Insekten das Vorkommen einer Urikase. Przylecki (1926) konnte am überlebenden Gewebe einen Aufbau von Harnsäure aus harnsäurebildenden Substanzen in der Mitteldarmdrüse von *Helix* nachweisen, jedoch Beweise für einen Harnsäureabbau nicht erbringen. Wolf hat 1933 auch Synthesen bei *Helix* durchgeführt, und schließt sich, da sie positiv verliefen, auch den Ergebnissen Przyleckis in bezug auf den Harnsäureabbau an, da Przylecki als allgemein gültigen Satz aufgestellt hat, daß in demselben Organismus nicht sowohl ein Abbau als auch ein Aufbau der Harnsäure gleichzeitig nebeneinander vorkommen können. Plum (1935) konnte den Nachweis erbringen, daß in diesem Organ bei Harnsäurezusatz der Allantoinwert eine Zunahme erfährt. Hiermit waren die einzelnen Befunde Przyleckis in bezug auf Harnsäureabbau im Autodigestionsversuch bei *Helix* stark in Zweifel gezogen, sowie die hieraus gezogenen weitgehenden Folgerungen in Frage gestellt. Meine eigenen Versuche waren in anderer Weise als diejenigen Plums angesetzt, aber auch so konnte ich die Resultate Plums durchaus bestätigen. Die von mir an Lamellibranchiaten gefundenen Ergebnisse stehen im Gegensatz zu denen Przyleckis, da ich hier nicht nur einen Abbau der Harnsäure — wie dieser ihn für *Anodonta* festgestellt hat —, sondern erstmalig auch eine Synthese durchführen konnte.

Methodik.

Mit Ausnahme von *Limnaea*, wo außerdem einige Autodigestionsversuche am Nephridium durchgeführt wurden, war bei sämtlichen Tieren die Mitteldarmdrüse Gegenstand der Untersuchungen. Die verwandten Gewebe wurden sorgfältig herauspräpariert, in der Fleischmaschine zerkleinert oder im Mörser ohne Seesand möglichst fein zerrieben und in Portionen von 0,8—5 g in geeignete Gefäße eingewogen. Jeder Versuch bestand aus drei Parallelversuchen mit der gleichen Menge Gewebesubstanz, die in der Abb. 1 mit *A*, *B* und *C* gekennzeichnet sind. Gefäß *A* erhielt keinerlei Zusatz, *B* wurde mit 10—150 ccm einer Harnsäurelösung versetzt. Diese wurde so hergestellt, daß in einem 250 ccm Meßkolben 250 mg Harnsäure und 125 mg Li_2CO_3 genau eingewogen wurden und mit Aqua dest. bis zur Marke aufgefüllt wurde. Jeder Kubikzentimeter dieser Lösung enthielt also 1 mg Harnsäure. Zu *C* wurde — nach 10 Minuten langem Erhitzen auf dem kochenden Wasserbad — um etwa vorhandene Fermente abzutöten — dieselbe Harnsäurelösung in gleicher Menge zugesetzt. Um eine bakterielle Zersetzung zu verhindern, wurde zu allen Versuchen 10 ccm Chloroformwasser hinzugefügt und sodann bei 38—39° im Thermostaten je nach Versuch $3^1/_2$—5 Stunden belassen.

Nach Ablauf der Digestionszeit wurde das verwandte Gewebe mit gereinigtem Seesand (Merck) im Mörser vollständig zerrieben und mit heißem Aqua dest. extrahiert. Die Enteiweißung geschah mit den schon beschriebenen Methoden, die Bestimmung der Harnsäure in üblicher Weise mit dem Leitzschen Absolutkolorimeter.

Nachdem Przylecki festgestellt hatte, daß bei *Anodonta* Harnsäure nicht vorkommt, machte er jedoch die interessante Beobachtung, daß, sofern man diesen Tieren Harnsäure injiziert oder sie zu überlebendem Gewebebrei gibt, dieselbe einen Abbau erfährt. Ich selbst habe Harnsäure bei *Unio* und *Mytilus* in der Mitteldarmdrüse festgestellt — die gleichen Ergebnisse hatte Delaunay bei den von ihm untersuchten Lamellibranchiaten — und ich stehe deshalb wiederum in Gegensatz zu den Untersuchungen von Przylecki. Letzterer bezeichnet die Lamellibranchiaten als „uriconegative“ (Harnsäure fehlt) und „uricolytique“ (Harnsäure kann abgebaut werden), ohne sich darüber klar zu sein, daß dies eine biologisch nur schwer verständliche Theorie darstellt. Wo sich ein auf einem bestimmten Stoff oder enge Stoffgruppe wirkendes Enzym vorfindet, ist das Vorhanden-

sein des dazu gehörenden Substrates sehr wahrscheinlich. In diesem Fall haben wir eine Urikase vor uns und es ist deshalb Harnsäure sicherlich vorhanden. Ist sie nicht feststellbar, so müssen wir annehmen, daß sie in so geringen Mengen — vielleicht nur intermediär — anwesend ist und deshalb mit unseren Methoden nicht immer erfaßt werden kann.

Bei *Unio* kann ich in bezug auf den Harnsäureabbau im Autodigestionsversuch die Ergebnisse von Przylecki an *Anodonta* bestätigen (Abb. 1 *Unio*). Von einer Reihe von Versuchen möchte ich die wesentlichen Tatsachen anführen. Bei einer Digestionszeit von $3^1/_2$ Stunden und unter Verwendung von 2 g Mitteldarmdrüsensubstanz wurde nach Zusatz verschiedener Mengen Harnsäure ein Verschwinden derselben um 39 resp. 45 % festgestellt. Ich habe dies in der Abb. 1 als Abbau bezeichnet. Es ist jedoch klar, daß es sich auch genau so gut um einen Aufbau handeln könnte. Wir sprechen von einem Abbau deshalb, weil in der Literatur ein Aufbau im Sinne einer Umwandlung der Harnsäure in einen anderen komplizierteren Körper niemals bekannt geworden ist. Die Möglichkeit eines Harnsäureaufbaues möchte ich nicht vollkommen ausschließen und erinnere an meine Ausführungen (S. 470). Für die Möglichkeit eines Abbaues der Harnsäure bei *Unio* spricht weiterhin, daß die Eppingersche Probe im Exkret in der Mitteldarmdrüse als auch im Nephridium positiv ausfiel. Diese Allantoinprobe ist in zwei Hinsichten jedoch nicht ganz zuverlässig. Sie ist äußerst empfindlich und gibt sowohl mit einigen anorganischen Salzen als auch mit Tryptophan eine Rotfärbung — außerdem auch mit einer Reihe anderer Substanzen, die wir aber ausschließen können, da sie biologisch nicht in Betracht kommen.

Bei *Mytilus edulis* war, obwohl eine ganze Reihe von Versuchen durchgeführt wurden, von denen zwei derselben in Abb. 1 *Mytilus*, No. 1 und 2 veröffentlicht seien, kein Abbau festzustellen. Es ist experimentell bewiesen, daß die Urikase ihre maximale Wirkung bei einem bestimmten p_H-Wert entfaltet. Bei Zusatz von Harnsäure und harnsäurebildenden Substanzen (ausführliches siehe unter Synthese) am überlebenden Gewebe findet eine Verschiebung des p_H-Wertes in größerem oder geringerem Grad statt, der von dem p_H-Wert der zugesetzten Substanz sowie von dem Puffervermögen der im Gewebe enthaltenen Salze bestimmt wird. Deshalb muß man damit rechnen, daß, solange man nicht den p_H-Wert nach Zusatz der im Versuch nötigen Substanz regulieren und durch Pufferung

aufrecht erhalten kann, die Urikasewirkung herabgesetzt oder überhaupt aufgehoben wird. In einigen Fällen ist es mir auch gelungen,

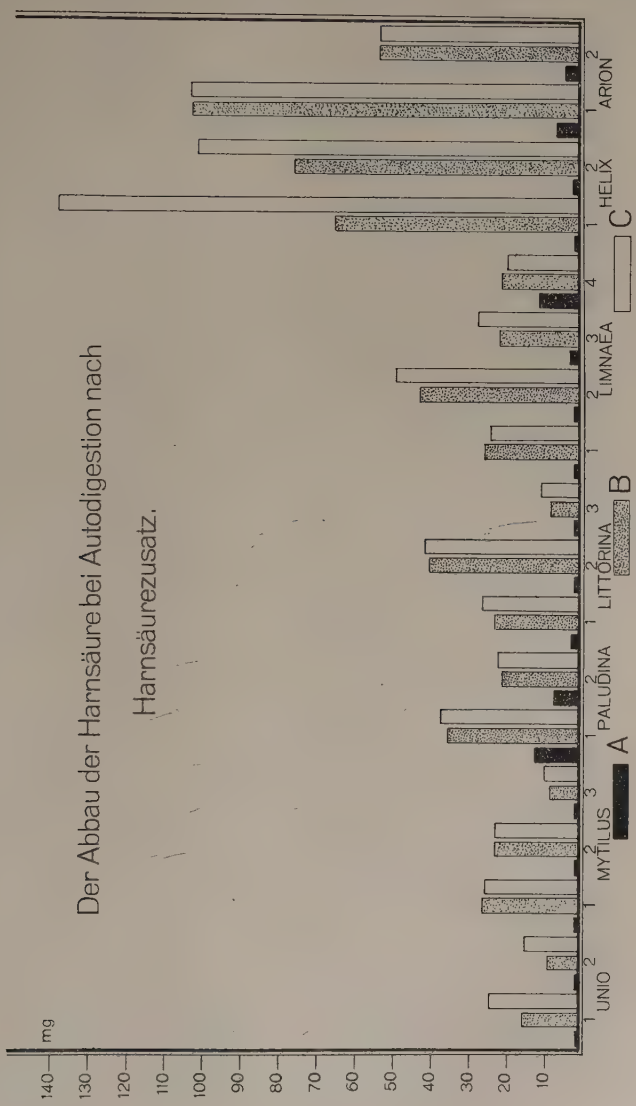

Abb. 1.

durch geeignete Pufferung einen Abbau der Harnsäure herbeizuführen. Die Gewebesubstanz wurde mit 20 ccm eines Dinatrium-

phospat-Zitronensäure-Puffers nach McIlvaine vom p_H-Wert = 7,2 versetzt. Als Beispiel weise ich auf Abb. 1 unter *Mytilus*, Versuch No. 3 hin, wo ein Abbau von 23 % zu konstatieren war.

Wie wir gesehen haben, waren in sämtlichen untersuchten Organen von *Paludina* große Mengen Harnsäure vorhanden. Im Winter wurde eine Speicherung derselben im Nephridium festgestellt, aber auch im Sommer war der Harnsäurespiegel relativ hoch. Trotzdem findet im Exkret nur eine verhältnismäßig geringe Ausscheidung von Harnsäure statt. Sofern die Harnsäure im Autodigestionsversuch verschwindet, stehen zur Erklärung zwei Wege offen. Es könnte eine Überführung in einen anderen Körper stattfinden. Die Möglichkeiten, die hierfür in Frage kommen, wurden schon auf S. 470 erörtert. Es könnte aber auch mit der Harnsäure ein Aufbau oder Abbau vor sich gehen. Bei letzterem käme als Endprodukt Allantoin in Frage, welches sofort ausgeschieden werden könnte, oder aber das Allantoin könnte als Ausgangsbasis für Synthesen anderer Stoffe Verwendung finden. Die Eppingersche Probe ist im Exkret von *Paludina* nur sehr schwach positiv, so daß, wenn überhaupt eine Ausscheidung von Allantoin stattfindet, dieselbe sehr gering ist. Für Verwendung des Allantoins zu Synthesen spricht auch die analoge Feststellung Leiferts, daß im Fettkörper bei *Antheraea pernyi*, wo im Autodigestionsversuch ein Abbau der Harnsäure einwandfrei stattgefunden hat, eine Allantoinausscheidung nicht vorkommt. Das weitere Schicksal des Allantoins ist noch unbekannt. Ein geringer Abbau der Harnsäure war bei *Paludina* im Autodigestionsversuch bei Harnsäurezusatz tatsächlich festzustellen. Er betrug ungefähr 5 % (Abb. 1 *Paludina*).

Bei Besprechung der Analysenergebnisse der verschiedenen Organe bei *Littorina* war auf eine große Ähnlichkeit mit *Aplysia*, die von Delaunay untersucht wurde, hingewiesen worden. Sulima fand im Autodigestionsversuch mit Mitteldarmdrüsen ohne Harnsäurezusatz nach 3 Stunden einen Abbau der Harnsäure, der zwischen 17 und 41 % schwankte. Bei einer Versuchsdauer von 6 Stunden war der Abbau derselben geringer. Bei Harnsäurezusatz und einer Versuchsdauer von 3 Stunden war der Abbau geringer als ohne Zusatz. In selbiger Richtung bewegten sich meine Versuche, indem bei Zusatz von größeren Mengen Harnsäure ein geringerer, bei Zugabe geringerer Mengen ein prozentual größerer Abbau zu verzeichnen war. So ist aus Abb. 1 unter *Littorina* zu ersehen, daß bei Zugabe von 40 mg Harnsäure ein Abbau von nur 3 % (2), bei Zusatz von 25 mg ein solcher von 12 % (1) und bei Zugabe von nur 10 mg ein Abbau von

22 % (3) stattfindet. Wurde bei Parallelversuchen für eine Durchlüftung mit gereinigter, NH_3 freier Luft gesorgt, so änderte sich auch hier das Ergebnis in keiner Weise. Sowohl aus den Versuchen Sulimas als auch den meinigen bei *Littorina* ist zu erkennen, daß der Harnsäureabbau im Autodigestionsversuch am überlebenden Gewebe am besten vor sich geht, wenn man bei Harnsäurezusatz den Gehalt nicht zu sehr über den normalen Spiegel erhöht.

Die Versuche wurden bei *Limnaea* mit Nephridial- und Mitteldarmdrüsenbrei angestellt. Da ich hier mit einem Abbau der Harnsäure rechnete, einen solchen aber in der Mitteldarmdrüse nicht einwandfrei feststellen konnte, habe ich dieselben Versuche mit Nephridialbrei durchgeführt. Trotz vielfacher Versuche und großem Zeitaufwand habe ich nur eine Reihe sich stark widersprechender Ergebnisse erhalten, von denen einige in Abb. 1 unter *Limnaea* angeführt sind. Versuch 1 und 2 stellen Mitteldarmdrüsen, Versuch 3 und 4 Nephridialexperimente dar. Die geringen Mengen Harnsäure im Exkret und der relativ hohe Harnsäuregehalt des Nephridiums auch im Sommer haben mich veranlaßt, die Experimente durchzuführen. Ich hatte eigentlich eindeutigere Ergebnisse in bezug auf Harnsäureabbau erwartet. Die Versuche mit Nephridialbrei waren genau so widersprechend wie diejenigen mit Mitteldarmdrüsenbrei.

Wie schon in der Einleitung zu dem Abschnitt „Der Abbau der Harnsäure bei Autodigestion nach Harnsäurezusatz“ ausgeführt, bestreitet Przylecki, daß in einem Tiere Synthese und Abbau gleichzeitig nebeneinander vorkommen. Plum hat 1935 jedoch dieser Behauptung Przyleckis widersprochen, indem er — Wolf bestätigt bei *Helix* die Synthesen Przyleckis — bei Zusatz von Harnsäure im Autodigestionsversuch am überlebenden Mitteldarmdrüsengewebe einen Abbau nachweisen konnte, da Allontoin in vermehrter Menge auftrat. Leider gestatten die Versuche Plums keine prozentuale Auswertung der Ergebnisse in bezug auf Harnsäureabbau. Mit Hilfe einer anderen Versuchsanordnung und einfacher Kontrolle der Harnsäure war ich in der Lage, die Versuche Plums zu bestätigen. Die Harnsäure wurde in Form einer prozentual genau bekannten Lösung zugegeben und gestattete eine quantitative Auswertung der Resultate. Sie erfährt einen Abbau, der zwischen 53 % und 26 % schwankt.

Infolge Materialmangels wurden bei *Arion* nur einige Versuche ausgeführt, die sämtlich negativ verlaufen sind. Dies ist wahrscheinlich auf die alkalische Reaktion des Gewebes zurückzuführen. In Hinsicht auf die Ergebnisse bei den anderen Gastropoden, bei

denen wir in geringerem oder höherem Maße einen Abbau fanden, dürfen wir auch hier mit einen Abbau rechnen, insbesondere, da der nah verwandte Landpulmonat *Helix pomatia* einwandfrei einen Abbau zeigt.

V. Die oxydative und synthetische Harnsäurebildung.

Durch eine ganze Reihe von Arbeiten, von denen ich nur diejenigen von Horbaczewski (1891), Wiener (1902) und Schittenhelm (1904) sowie Jones (1904) und Burian (1905) und die neuen Arbeiten von Schuler (1933) erwähnen möchte, wurden die Vorgänge über die oxydative und synthetische Harnsäurebildung bei Wirbeltieren aufgeklärt. Bei den Wirbellosen liegen nur vereinzelte Untersuchungen vor (Sulima, 1914; Przylecki, 1926; Wolf, 1933; Leifert, 1935). Es war deshalb erwünscht, einmal in einer vergleichenden Betrachtung sich mit diesen Fragen bei den Mollusken, insbesondere den Lamellibranchiaten sowie bei den wasserlebenden Gastropoden zu befassen. Besonders für die Lamellibranchiaten waren Untersuchungen notwendig, da hier Przylecki, wie schon erwähnt, einen Abbau nachweisen konnte, während sämtliche Syntheseversuche bei *Anodonta* und *Mya* negativ ausfielen. Er schließt daraus, daß bei Lamellibranchiaten eine Harnsäuresynthese nicht vorkommt. Im Laufe der Untersuchungen ergab sich weiterhin die Frage, ob eine Synthese bei Lamellibranchiaten stattfindet, da Harnsäure in der Mitteldarmdrüse, nicht aber im Nephridium und Exkret nachzuweisen war.

Im wesentlichen wurde die gleiche Versuchsmethodik benutzt, wie bei dem Abbau der Harnsäure angegeben worden ist.

Unio pictorum.

Bei Autodigestionsversuchen mit Mitteldarmdrüsenbrei konnte Przylecki (1926) eine nur geringe oxydative Harnsäurebildung bei *Anodonta* unter Xanthinzusatz feststellen. Bei *Unio* gelang es mir ebenfalls nicht, einen Harnsäurezuwachs zu erzielen, wie aus Tab. 7 zu ersehen ist.

Bei Zusatz von Barbitursäure und Harnstoff erhielt ich bei *Unio* unter Verwendung von Mitteldarmdrüsenbrei im Autodigestionsversuch eine starke Harnsäurebildung von 232 resp. 362 %. In Vorversuchen an *Helix* machte ich die Feststellung, daß die Harnsäurebildung aus Barbitursäure und Harnstoff nur dann zu einem Erfolg führt, wenn die von Wolf angegebene Konzentration eingehalten

Tabelle 7. Synthetische Harnsäurebildung bei *Unio pictorum*.

No. des Versuchs	Digestionsdauer Stdn.	Gewebe g	Zusatz harnsäurebildende Substanzen	Harnsäure in mg A Kontrolle ohne Zusatz	B mit Zusatz	C Kontrolle mit Zusatz	Zuwachs an Harnsäure in mg	Zuwachs an Harnsäure in %
1	$5^1/_2$	5	250 mg Barbitursäure 500 mg Harnstoff	0,28	0,93	0,18	0,63	232
2	5	2	100 mg Barbitursäure 200 mg Harnstoff	0,08	0,37	0,08	0,29	362
3	5	2	50 mg Xanthin	0,08	0,07	0,06	—	—
4	5	2	50 mg Ammonkarbonat	0,08	0,08	0,07	—	—

wird. Deshalb hielt ich es für zweckmäßig, nicht über diese Konzentration hinauszugehen und habe sie in allen Versuchen beibehalten, ohne allerdings zu wissen, ob ich bei jedem Tier auf diese Weise die optimale Wirkung erreichen würde. Im Gegensatz zu Przylecki, der eine Harnsäuresynthese bei Lamellibranchiaten nicht für möglich hielt, ist es mir erstmalig gelungen, bei dieser Klasse der Mollusken eine Synthese nachzuweisen. Dasselbe Ergebnis, das ich bei *Unio* erhielt, ließ sich auch bei *Mytilus edulis* erzielen. Damit ist wohl der Behauptung Przyleckis, daß bei demselben Tier ein Auf- und Abbau nicht gleichzeitig vorkommen kann, die Grundlage genommen, da wir einen Abbau schon eingehend beschrieben haben. Schließlich sei noch erwähnt, daß mit Ammonkarbonatzusatz kein Zuwachs der Harnsäure bei *Unio* auftritt.

Mytilus edulis.

Im Gegensatz zu den Versuchen bei *Unio* verliefen hier die Experimente, die auf eine oxydative Harnsäurebildung hinzielten, durchaus positiv, in Tab. 8, Versuch No. 4 und 5 ist bei Zusatz von 100 mg Xanthin zu 2 g Mitteldarmdrüsensubstanz ein Zuwachs von 75 %, bei Zugabe von 50 mg zu 3 g ein solcher von 38,46 %.

Aus nichtzyklischen Vorstufen gelang mir ebenfalls eine Harnsäuresynthese. Zu diesem Zweck beabsichtigte ich, Na-Malonat und Harnstoff dem zu verwendenden Gewebebrei zuzusetzen. Es zeigte

Tabelle 8. Synthetische Harnsäurebildung bei *Mytilus edulis*.

No. des Versuchs	Digestionsdauer Stdn.	Gewebe g	Zusatz Harnsäurebildende Substanzen	Harnsäure in mg A Kontrolle ohne Zusatz	B mit Zusatz	C Kontrolle mit Zusatz	Zuwachs an Harnsäure in mg	Zuwachs an Harnsäure in %
1	5	2,5	125 mg Barbitursäure 250 mg Harnstoff	0,11	0,49	0,12	0,38	345
2	5	2	100 mg Barbitursäure 200 mg Harnstoff	0,16	0,47	0,17	0,31	193
3	5	2	100 mg Na-Malonat 200 mg Harnstoff	0,16	0,27	0,12	0,11	68
4	5	2	100 mg Xanthin	0,16	0,28	0,16	0,12	75
5	11	3	50 mg Xanthin	0,26	0,36	0,18	0,10	38

sich jedoch, daß bei Zugabe dieses Gemisches eine äußerst starke p_H-Wertverschiebung nach der sauren Seite hin stattfindet, die sich auch durch Zusatz von stark alkalischen Puffern nicht dämpfen ließ. Es stellte sich heraus, daß ohne Anwendung von Vorsichtsmaßregeln keine positiven Ergebnisse zu erhalten waren. Deshalb ging ich bei *Mytilus* so vor, daß nach Herstellung einer Harnstoff-Na-Malonatlösung von gewünschter Konzentration eine Neutralisation durch tropfenweise Zugabe von verdünnter NaOH vorgenommen wurde. Auf diese Weise gelang es, bei *Mytilus* deutlich positive Resultate zu erlangen, wie zu entnehmen ist aus Versuch 3, bei welchem die Harnsäure einen Zuwachs von 68 % erfahren hat.

Bei *Mytilus* verliefen Syntheseversuche, bei denen als Ausgangsprodukt Barbitursäure und Harnstoff gewählt waren, sehr deutlich positiv. Es wurden in Versuch 1 und 2 Zuwachswerte erhalten, die bei 345 und 193 % lagen.

Mytilus ist also ein Vertreter der Lamellibranchiaten, bei dem wir unter Verwendung von zyklischen und nichtzyklischen Vorstufen einwandfreie Harnsäuresynthesen erstmalig erhalten haben. Wir haben also hier wieder ein Tier vor uns, bei dem Ab- und Aufbau nebeneinander zu finden sind, wenn auch die Abbauergebnisse noch nicht als ganz einwandfrei zu bezeichnen sind.

Ergebnisse der Versuche an Gastropoden.

Die großen Mengen Harnsäure, die im Körper von *Paludina* vorkommen, zwingen die Überzeugung auf, daß hier nicht nur eine oxydative, sondern auch eine synthetische Harnsäurebildung an dem Aufbau solch großer Mengen Harnsäure beteiligt ist. Trotz großen Zeitaufwandes und Durchführung einer großen Anzahl von Versuchen sind jedoch bei *Paludina vivipera* die Versuche gänzlich negativ verlaufen. Ich bin jedoch überzeugt, daß dieselben, wenn die Faktoren, die den synthetischen Verlauf beeinflussen, von uns in weiterem Umfange beherrscht werden könnten, in positiver Richtung ausgehen würden. Wenn wir auch bei *Littorina littorea* nicht mit solcher Überzeugung an eine Synthese glaubten, da die bei den Analysen vorgefundenen Harnsäuremengen nicht so groß waren, so waren wir doch überrascht, auch hier negative Ergebnisse zu erhalten. Diese Tatsache erscheint merkwürdig, da es Sulima bei *Aplysia* gelang, eine Harnsäuresynthese zu erreichen. Bei *Limnaea stagnalis* erhielten wir, wenn wir Aminosäuren (Glykokoll) als Ausgangsmaterial für die Synthese wählten, einen Zuwachs von ungefähr 40 %. Mit anderen harnsäurebildenden Substanzen ergaben sich keine positiven Resultate. Obwohl bei *Helix* die Synthesen oftmals durchgeführt und leicht eindeutig positive Ergebnisse zu erhalten sind, gelingt diese nicht bei ähnlichen Versuchen an *Arion empiricorum*. Dies ist äußerst bemerkenswert, da die Tiere sich sowohl in ökologischer als auch morphologischer Hinsicht auf den ersten Blick hin sehr nahe zu stehen scheinen. Vielleicht gilt auch für die anderen gerade beschriebenen negativen Resultate das bei *Paludina* Gesagte, und ich möchte mich selbst noch weiterhin mit diesen Fragen befassen.

VI. Vergleichende Betrachtung der Resultate.

Wie eine Betrachtung der Ergebnisse an der Mitteldarmdrüse ersehen läßt, ist bei allen Tieren im Winter eine mehr oder minder große Abnahme des Rest-N-Wertes zu verzeichnen. Nur bei *Littorina* kommt diese Saisonschwankung kaum zum Ausdruck.

Bei sämtlichen untersuchten Tieren spielt im Sommer der Harnstoff nur eine geringe Rolle. In einigen Fällen (*Unio, Limnaea*) ist im Winter eine Zunahme zu bemerken, während bei anderen (*Paludina, Littorina*) eine geringe Abnahme zu konstatieren ist. Die Ände-

rungen sind jedoch nur geringfügig, so daß auch im Winter die Bedeutung des Harnstoffs nur eine untergeordnete ist.

Auch beim Ammoniak ist eine prozentuale Zunahme vorhanden, die aber, abgesehen von *Littorina*, keine zu großen Änderungen bedingt. Im Winter tritt fast durchweg eine Erhöhung des Harnsäurewertes ein (Ausnahme *Paludina*).

Die Purine stellen meist ein wichtiges Stickstoffprodukt in der Mitteldarmdrüse dar. Bei *Unio* zeichnen sich die Purinwerte durch einen bedeutenden Anstieg im Winter aus, um dann sogar 30 % des Rest-N-Wertes auszumachen. Amino-N ist überall von großer Bedeutung und nimmt meist den größten Teil des dosierbaren-N in Anspruch. *Paludina* ist hierbei wohl die einzige Ausnahme. Abgesehen von *Littorina* sinkt zum Winter hin der Wert etwas ab, was wohl mit der in der kalten Jahreszeit eingeschränkten Nahrungsaufnahme zusammenhängt. Interessant ist auch die Beobachtung, daß der Amino-N-Spiegel während des Sommers bei den verschiedenen Gastropoden sich innerhalb enger Grenzen bewegt. Über das Schicksal der Aminosäuren bei Mollusken werden wir noch bei der vergleichenden Betrachtung über das Exkret weitere Ausführungen machen.

Tabelle 9.

Mitteldarmdrüse	Lamellibranchiata				Gastropoda							
	Unio		*Mytilus*		*Paludina*		*Littorina*		*Limnaea*		*Arion*	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	147,7	—	—	—	469,2	—	587,3	—	382,9	—	354,8	—
„	79,7	—	532,0	—	285,6	—	512,4	—	138,6	—	—	—
Harnstoff-N	1,8	1,2	—	—	15,0	3,3	4,0	0,6	12,6	3,2	3,3	0,9
„	2,4	3,0	6,7	1,2	—	—	—	—	5,4	3,9	—	—
Ammoniak-N	3,2	2,1	—	—	6,2	1,2	8,6	1,4	12,6	3,2	6,6	1,8
„	7,3	9,2	5,4	1,0	4,3	1,5	38,3	7,4	5,8	4,2	—	—
Harnsäure-N	3,3	2,2	—	—	298,4	60,1	8,6	1,4	4,2	1,1	9,4	2,6
„	1,2	1,5	2,0	0,3	143,3	50,1	5,6	1,1	2,3	1,7	—	—
Purin-N	14,7	10,0	—	—	—	—	35,9	6,4	75,8	19,8	3,9	1,1
„	24,6	30,8	7,4	1,4	—	—	31,5	6,1	24,9	17,9	—	—
Amino-N	65,2	44,1	—	—	72,1	20,6	197,9	35,5	110,3	28,8	112,3	31,6
„	30,0	37,6	42,3	7,9	35,0	12,7	199,4	38,9	36,9	26,6	—	—

Bei Durchsicht der Ergebnisse am Nephridium die in Tab. 10 zusammengefaßt sind, tritt klar hervor, daß bei allen Tieren ein deutlicher Speicherungsvorgang während des Winters zu verzeichnen ist. Die Speicherung ist jedoch eine allgemeine Tendenz und ist

nicht nur an das Nephridium gebunden. Im Nephridium wird dieser Vorgang schon deutlich bei einem Vergleich der Rest-N-Werte. Der Harnstoff spielt wieder im Sommer und Winter bei sämtlichen Tieren eine untergeordnete Rolle. Er fehlt sogar bei *Unio* sowie *Arion*. Im Winter nimmt der Harnstoff im allgemeinen ab und verschwindet im Nephridium bei *Littorina* sogar vollständig. Nur bei *Unio*, wo er im Sommer nicht nachzuweisen war, nimmt der Harnstoff im

Tabelle 10.

Nephridium	Lamellibranchiata				Gastropoda							
	Unio		*Mytilus*		*Paludina*		*Littorina*		*Limnaea*		*Arion*	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	63,3	—	—	—	193,9	—	281,2	—	275,4	—	582,4	—
„	74,6	—	489,2	—	317,6	—	554,4	—	691,7	—	—	—
Harnstoff-N	—	—	—	—	3,3	1,7	7,3	2,6	8,7	3,1	—	—
„	19,3	25,8	8,4	1,7	4,3	1,3	—	—	6,1	0,8	—	—
Ammoniak-N	2,2	3,5	—	—	5,9	3,0	6,7	2,3	6,2	2,2	78,4	13,4
„	7,0	9,4	15,9	3,2	8,6	2,7	22,4	4,4	4,9	0,7	—	—
Harnsäure-N	—	—	—	—	95,3	49,1	26,2	9,3	131,1	47,6	153,3	26,3
„	—	—	—	—	176,2	55,4	44,5	8,0	387,8	56,0	—	—
Purin-N	5,5	8,8	—	—	—	—	6,4	2,2	—	—	50,9	8,7
„	9,5	12,8	17,6	3,6	—	—	—	—	194,0	28,0	—	—
Amino-N	38,5	56,6	—	—	35,1	18,1	9,5	3,7	—	—	46,4	7,9
„	38,3	51,3	81,5	16,6	96,1	30,2	97,5	17,6	55,5	8,0	—	—

Winter mit 25,8 % des Rest-N-Wertes eine nicht zu übersehende Stellung ein. Ammoniak ist im Nephridium mit Ausnahme von *Arion* prozentual unbedeutend. Die Lamellibranchiaten zeichnen sich dadurch aus, daß Harnsäure im Winter sowie im Sommer fehlt. Eine Betrachtung der Harnsäurewerte der Gastropoden im Sommer wie auch im Winter zeigt auffallende Ähnlichkeiten im Verhalten von *Paludina* und *Limnaea* (gleichsinnige Speicherung). Im Sommer beträgt bei *Helix* der Harnsäure-N 50 % des Rest-N, während er im Winter auf 58,8 % ansteigt. Bei *Littorina* findet, wenn man die absoluten Werte zugrunde legt, ebenfalls eine Speicherung der Harnsäure statt. Während der Harnsäurewert im Sommer bei *Arion* weit über demjenigen von *Littorina* liegt, ist er noch immer bedeutend niedriger als bei *Paludina* und *Limnaea* und somit auch von *Helix*. Purin-N spielt im Sommer wie auch im Winter im Nephridium annähernd dieselbe Rolle, die er in der Mitteldarmdrüse gespielt hat. Bei *Unio* ist jedoch ein deutlicher Anstieg während des Winters zu vermerken und bei *Limnaea* nimmt er in dieser Jahreszeit den höchsten

Wert mit 28 % an. Amino-N hat im Vergleich zur Mitteldarmdrüse im allgemeinen an Bedeutung verloren. Er zeigt bei *Paludina* und *Littorina* einen Anstieg zum Winter hin, während er bei *Unio* — wo er ausnahmsweise höher steht als in der Mitteldarmdrüse — eine leichte Abnahme erfährt.

Genau wie wir in der Mitteldarmdrüse eine Abnahme des Rest-N-Wertes bei allen zu den zwei verschiedenen Jahreszeiten untersuchten Tieren konstatieren konnten, stellen wir in den über Exkret zusammengestellten Ergebnissen dieselbe Tatsache fest (Tab. 11). Dies steht wohl in enger Beziehung zu dem Speicherungsvorgang, der während des Winters im Nephridium vor sich geht und zu der allgemeinen Herabsetzung des Stoffwechsels. Harnstoff ist im Exkret prozentual besser vertreten mit Ausnahme der Lamellibranchiaten sowie von *Arion* als einzigem Gastropoden, wo er überhaupt nicht festzustellen war.

Tabelle 11.

Exkretion für 24 Stdn.	Lamellibranchiata				Gastropoda							
	Unio		*Mytilus*		*Paludina*		*Littorina*		*Limnaea*		*Arion*	
	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%	mg in 100 g	%
Rest-N	5,8	—	—	—	2,7	—	57,0	—	15,9	—	26,5	—
„	1,4	—	2,8	—	1,4	—	23,7	—	5,1	—	—	—
Harnstoff-N	—	—	—	—	0,2	8,1	7,2	12,6	2,2	13,8	—	—
„	—	—	—	—	0,2	13,1	0,4	1,9	0,4	9,0	—	—
Ammoniak-N	1,4	24,8	—	—	0,1	4,4	22,7	39,9	6,7	42,3	2,6	9,8
„	0,6	44,2	0,3	10,8	0,2	13,1	14,5	61,1	Spuren	—	—	—
Harnsäure-N	—	—	—	—	0,2	6,6	0,5	0,8	0,8	5,2	0,9	3,3
„	—	—	—	—	0,1	10,4	0,2	1,1	0,2	4,0	—	—
Purin-N	—	—	—	—	0,8	29,5	16,3	28,7	—	—	4,4	16,6
„	0,2	20,0	0,4	16,0	0,4	31,2	3,7	15,9	1,4	27,2	—	—
Amino-N	—	—	—	—	0,7	27,3	3,8	6,7	—	—	4,8	18,0
„	0,4	28,5	1,0	35,5	0,4	31,9	2,2	9,6	1,4	27,9	—	—

Die Ammoniak-N-Ausscheidung ist bei *Unio*, *Littorina* und *Limnaea* von außerordentlich großer Bedeutung, während sie bei *Mytilus*, *Paludina* und *Arion* demgegenüber eine geringere Wichtigkeit besitzt. Bei *Unio* und *Littorina* wurde ein bedeutender Zuwachs der Ammoniakausscheidung im Winter festgestellt; bei *Limnaea* hingegen finden wir im Winter eine ebenso starke Tendenz in entgegengesetzter Richtung.

Mit Ausnahme von *Paludina* und vielleicht auch *Limnaea* ist die Harnsäureausscheidung ganz unbedeutend und fehlt bei den

Lamellibranchiaten sogar vollkommen. v. Buddenbrock (1928) spricht sich für eine maßgebliche Bedeutung des Wasserhaushaltes in der Exkretphysiologie der Tiere aus, da hierdurch die Natur der ausgeschiedenen Produkte bestimmt wird. Steht dem Tier viel Wasser zur Verfügung, so werden leicht lösliche Stoffe wie Ammoniak und Harnstoff abgegeben. Ist ein Tier gezwungen mit dem Wasser sparsam hauszuhalten, so findet eine Exkretausscheidung in fester Form statt, wobei Harnsäure bevorzugt wird. Diese Theorie ist jedoch nicht zu verallgemeinern, denn es scheinen Übergänge oder Ausnahmen zu bestehen, wobei ich auf die Schildkröten hinweisen möchte, bei denen die landlebenden Formen im Gegensatz zu sämtlichen anderen Reptilien Harnstoff in größerer Menge ausscheiden. Auch auf *Paludina* möchte ich in diesem Zusammenhang die Aufmerksamkeit lenken. Hier sehen wir einen wasserlebenden Gastropoden mit einem ausgesprochenen Harnsäurestoffwechsel, welcher auch durch eine Beteiligung der Harnsäure am Exkret zum Ausdruck kommt. Es liegt hier also der Fall vor, daß bei einem primären Wasserbewohner, trotzdem viel Wasser zur Verfügung steht, die schwer lösliche Harnsäure auch bei den Ausscheidungsprodukten eine Rolle spielt. Vielleicht wird hier die Harnsäure als Ammoniumurat abgegeben.

Bei allen untersuchten Tieren fällt auf den Purin-N im Sommer wie im Winter ein nicht unbeträchtlicher Teil des Rest-N-Wertes. Ohne Zweifel spielt auch der Amino-N im Exkretstoffwechsel der Mollusken eine große Rolle. Mit Ausnahme von *Littorina* und *Arion* macht er bei den untersuchten Tieren immer ca. 25—35 % des Rest-N-Wertes aus. Diese Feststellung hat auch Delaunay bei Untersuchungen an anderen Wirbellosen gemacht. Er nimmt als Erklärung für diese Tatsache an, daß das Nephridium der Wirbellosen durch eine hochgradige Insuffizienz gekennzeichnet ist. Experimentelle Beweise für eine erhöhte Durchlässigkeit des Nephridiums für Aminosäuren liegen nicht vor. Ich möchte hier jedoch auf eine andere Erklärungsmöglichkeit hinweisen. Ist die prozentuale Stickstoffausscheidung (neben den Aminosäuren) beträchtlich, wie z. B. bei *Littorina*, wo Ammoniak in größerer Menge ausgeschieden wird, so ist der Amino-N von untergeordneter Bedeutung. Ist jedoch die prozentuale Ausscheidung von Stickstoffprodukten allgemein niedrig, so treffen wir im Exkret einen hohen Aminogehalt an. Dies berechtigt zu der Folgerung, daß dort, wo eine Ausnutzung der Aminosäuren zwecks Energiegewinn nicht vor sich geht, eine verstärkte

Ausscheidung stattfindet. Ich möchte daran erinnern, daß beim Abbau der Eiweißkörper ein Energiegewinn erst bei der Desaminierung auftreten kann. Die hydrolytischen Prozesse, welche die Eiweiße in ihre Bausteine, die Aminosäuren zerlegen, verlaufen unter geringem Energiezusatz. Die Mollusken scheinen im allgemeinen unfähig zu sein, die aufgenommene Eiweißnahrung in dem vollkommenen Maße — wie etwa die Wirbeltiere — auszunutzen. Ein großer Teil der gespaltenen Eiweißkörper wird zweifellos in Form von Aminosäuren für Ersatzzwecke zu körpereigenem Eiweiß aufgebaut, ein Teil wird desaminiert und der andere Teil erscheint unverbraucht im Exkret. Das Molluskennephridium ist somit nicht aufzufassen als ein Organ, das auf Grund seines Baues unfähig ist, Eiweißprodukte in Form von Aminosäuren zurückzuhalten, sondern ein Organ, das sich physikochemisch an die normalen Stoffwechselanforderungen des Organismus anpaßt. Weiterhin dürfen wir als Folge dieser starken Aminosäureausscheidung annehmen, daß die Mollusken im allgemeinen auf Kohlehydrate und Fette als Energiequelle angewiesen sind und die Eiweiße hierfür maßgeblich nicht in Frage kommen.

Vergleichend betrachtet lassen die bei den Autodigestionsversuchen gewonnenen Ergebnisse in bezug auf Harnsäureabbau im Molluskenorganismus keine allgemeinen Schlüsse zu. Bei allen untersuchten Tieren mit Ausnahme von *Limnaea* und *Arion* war bei Harnsäurezusatz ein mehr oder minder starker Abbau der Harnsäure zu konstatieren. Die an *Limnaea* gewonnenen — sich widersprechenden Ergebnisse — ließen keine einheitlichen Schlüsse zu, da die Versuche an der Mitteldarmdrüse sowie am Nephridium nur teilweise positiv verliefen. Bei *Arion* zeigten sämtliche Versuche negativen Erfolg. Die in der Literatur erwähnten verschiedenartigen Ergebnisse bei *Helix pomatia* habe ich bei *Helix* zugunsten der Auffassung von Plum klären können. Bei den untersuchten Lamellibranchiaten ist es mir gelungen, in der Mitteldarmdrüse einen deutlichen Abbau der zugesetzten Harnsäure im Autodigestionsexperiment festzustellen. Eine weitere Stütze für das Vorkommen von Harnsäure in der Mitteldarmdrüse bei *Unio* und *Mytilus* ergab sich aus der Feststellung einer synthetischen Harnsäurebildung in der Mitteldarmdrüse der Lamellibranchier. Diese Tatsache lehnt Przylecki für die Lamellibranchiaten vollkommen ab. Durch die Versuche anderer Autoren, die bei *Helix* eine Synthese und einen Abbau sicherstellten, sowie durch meine Bestätigung des letzteren zusammen mit der Feststel-

lung dieser Vorgänge bei den Acephalen ist der Satz Przyleckis „La dégradation et la synthèse d'acide urique ne se rencontrent jamais chez la même forme animale“ endgültig widerlegt.

VII. Zusammenfassung.

1. Es wurde bei einer Reihe land- und wasserlebender Mollusken aus verschiedenen systematischen Gruppen die Verteilung der N-haltigen Exkretstoffe in den wichtigsten Stoffwechselorganen untersucht.

2. Die hohe Amino-N-Abscheidung spricht dafür, daß die Verbrennbarkeit der Eiweiße bei Mollusken beschränkt ist. Auch der gegenüber dem Harnsäure-N hohe Purin-N in den Exkreten weist auf das geringe Oxydationsvermögen — vor allem bei Lamellibranchiaten — hin.

3. Im Gegensatz zu anderen Autoren, wurde die Anwesenheit von Harnsäure bei Lamellibranchiaten (*Unio*, *Mytilus*) in der Mitteldarmdrüse nachgewiesen.

4. Im intermediären Stoffwechsel tritt Harnsäure in der Mitteldarmdrüse stets auf, auch dort, wo sie wie bei den Lamellibranchiaten nicht als Exkret abgeschieden ist. Dies spricht dafür, daß sie z. T. wahrscheinlich synthetisch zur Bildung anderer Körper Verwendung finden kann.

5. Bei den Gastropoden findet im Winter eine Harnsäurespeicherung außer im Nephridium auch in anderen Organen vor allem in der Eiweißdrüse statt.

6. Weder durch die systematische Stellung noch durch den ökologischen Lebensstandard ist die Art des Exkretstoffwechsels festgelegt.

7. Der Harnstoff als Exkretstoff ist bei allen untersuchten Mollusken von ganz untergeordneter Bedeutung. Die von Delaunay festgestellte Ausnahme bei *Arion* konnte nicht bestätigt werden.

8. Ein Abbau der Harnsäure wurde im Autodigestionsversuch für die Lamellibranchiaten sowie *Paludina*, *Littorina* und *Helix* sichergestellt.

9. Bei Lamellibranchiaten konnte im Gegensatz zu Przylecki eine synthetische Harnsäurebildung durchgeführt werden.

10. Bei einigem Mollusken können Abbau und Aufbau von Harnsäure gleichzeitig vorkommen.

VIII. Literaturverzeichnis.

Blankenstein, A. (1931), Zur Methodik der Harnsäurebestimmung im Blutserum, in: Biochem. Ztschr., Vol. 237—238.

v. Buddenbrock, W., (1928), Grundriß der vergleichenden Physiologie, Berlin.

Cameron, A. T., (1929), A Textbook of Biochemistry, New York.

Champagne, M. u. G. Mourot, (1931), Die Bestimmung des Allantoins im tierischen Harn, in: Bull. Soc. chim. biol., Vol. 13.

Christman, A. A., (1926), A Method for the Determination of Allantoin in Rabbit Urine, in: Jl. Biol. Chem., Vol. 70.

—, (1930), Purine Metabolism. III. Diet and Caging as Factors in the Allantoin Excretion of the Rabbit, ibid., Vol. 86.

Cuénot, L., (1892), Études physiologiques sur les Gastéropodes pulmonés, in: Arch. Biol., Vol. 12.

—, (1892), L'excrétion chez les Gastéropodes pulmonés, in: C. r. Acad. Sci. Paris, Vol. 115.

—, (1900), L'excrétion chez les Mollusques, in: Arch. Biol., Vol. 16.

—, (1928), Les foies des Invertébrés. L'excrétion des Invertébrés, in: Traité de Physiologie norm. et path., Vol. 3.

Delaunay, H., (1912), Sur l'Azote restant du sang et du liquide cavitaire de quelques Invertébrés. Ses rapports avec l'azote protéiques, in: C. r. Soc. Biol., Paris, Vol. 73.

—, (1913), Recherches sur les échanges azotés des Invertébrés, in: Arch. internat. Physiol., Vol. 13.

—, (1927), Recherches biochimiques sur l'excrétion azotée des Invertébrés; Traveaux de la station biologique d'Arcachon, in: Bull. Stat. Biol. d'Arcachon, Vol. 21, 23, 24, Bordeaux.

—, (1934), Le métabolisme de l'ammoniaque d'après les recherches relatives aux Invertébrés, in: Ann. Physiol., Vol. 10 (4).

Folin, O., (1930), Unlaked Blood as a Basis for Blood Analysis, in: Jl. Biol. Chem., Vol. 86.

—, (1930), An Improved Method for the Determination of Uric Acid in Blood, ibid., Vol. 86.

Folin, O. u. A. D. Marenzi, (1929), The Preparation of Uric Acid Reagent completely free from Phenol Reagent, ibid., Vol. 83.

Folin, O. u. A. Svedberg, (1930), An Improved Distillation Method for the Determination of Urea in Blood, ibid., Vol. 88.

—, (1930), Mikro Methods for the Determination of Non Protein Nitrogen, Urea, Uric Acid and Sugar in Unlaked Blood, ibid., Vol. 88.

Folin, O. u. H. Wu, (1919), A Revised Colorimetric Method for Determination of Uric Acid in Urine, ibid., Vol. 38.

—, (1919), A System of Blood Analysis, ibid., Vol. 38.

Fosse, R., (1913), Présence de l'urée chez les Invertébrés et dans leurs produits d'excrétion, in: C. r. Acad. Sci. Paris, Vol. 157.

Fosse, R. u. V. Bossuyt, (1929), Analyse quantitative et caractérisation de l'allantoïne, ibid., Vol. 188.

Fosse, R. u. A. Brunel, (1929), Un nouveau ferment, in: C. r. Acad. Sci. Paris. Vol. 188.

Fosse, R.; A. Brunel u. P. de Graeve, (1929), Applications à l'urine du dosage biochimique de l'allantoïne, ibid., Vol. 188.

Handovsky, H., (1914), Untersuchungen über Physiologie und Pharmakologie des Purinhaushaltes. III. Mitteilung. Die Bestimmung des Allantoins im Harn durch Titration, in: Hoppe-Seyler, Ztschr. Physiol. Chem., Vol. 90.

Hoppe, Seyler u. Thierfelder, (1924), Handbuch der Physiologischen und Pathologischen Chemischen Analyse, Berlin.

Kleinmann, H. u. H. Bork, (1933), Untersuchungen über Urikolyse. I. Vorkommen und Eigenschaften der Urikase, in: Biochem. Ztschr., Vol. 261.

—, (1933), Untersuchungen über Urikolyse. II. Herstellung und Untersuchung gereinigter Urikaselösungen, ibid., Vol. 261.

Krebs, H. u. K. Henseleit, (1932), Untersuchungen über die Harnstoffbildung im Tierkörper, in: Hoppe-Seyler, Ztschr. physiol. Chem., Vol. 210, p. 33—66.

Leifert, H., (1935), Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel bei Eiern, Raupen und Puppen von Antheraea pernyi, in: Zool. Jahrb., Allg. Zool. u. Physiol., Vol. 55.

Michlin, D. u. A. Ryzows, A., (1934), Über nichtfermentative Uricolyse in tierischem Gewebe, in: Biochem. Ztschr., Vol. 273.

Nagel, W., (1935), Die vegetative Tonuslage des Frosches und deren Schwankungen, in: Ztschr. vergl. Physiol., Vol. 22.

Pinkussen, L, (1930), Mikro-Methodik, Leipzig.

Plum, K., (1935), Über die Bildung von Allantoin in der Mitteldarmdrüse von Helix pomatia L., in: Ztschr. vergl. Physiol., Vol. 22.

Przylecki, St. J., (1922—1923), L'excrétion ammoniacale chez les Invertébrés dans les conditions normales et experimentales, in: Arch. Intern. Physiol., Vol. 19—20.

—, (1922—1923), Présence et Répartition de l'Urease chez les Invertébrés, ibid., Vol. 19—20.

—, (1924—1925), La Dégradation de l'Acide Urique chez les vertébrés. I. Sur un nouveau Ferment — l Allantoïnase. II. La Répartition de l'Uricase et du Ferment synthètisant l'acide urique chez les différentes classes, ibid., Vol. 23—24.

—, (1926—1927), La Dégradation de l'Acide Urique chez les Êtres Vivants. V. Le répartition et la dégradation de l'acide urique chez les Invertébrés, ibid., Vol. 27—28.

Quast, P., (1924), Chemische Untersuchung des Organextraktes der Konkrementendrüse und des Nephridiums von Cyclostoma elegans Drap., in: Ztschr. Biol., Vol. 80.

Rona, Peter, 1929, Praktikum der Physiologischen Chemie, Vol. 1, 2, 3, Berlin.

Rusgnyak, S. u. E. Hatz, (1933), Neue maßanalytische Mikrobestimmungsmethode der Harnsäure in Harn und Blut, in: Biochem. Ztschr., Vol. 257—258, H. 1.

Schittenhelm, A., (1904), Über die Harnsäurebildung in Gewebesauszügen, in: Ztschr. physiol. Chem., Vol. 42.

Schuler, W., (1932), Die Urikolyse, II. Mitteilung, in: Hoppe-Seyler, Ztschr., Vol. 208.

Schuler, W. u. W. Reindel, (1932), Die Oxydation der Harnsäure in alkalischer Lösung, ibid., Vol. 208.

Strohl, J., (1924), Die Exkretion der Mollusken, in: Handb. vergl. Physiol., Vol. 2, Heft 2.

Sulima, A., (1914), Beiträge zur Kenntnis des Harnsäurestoffwechsels niederer Tiere, in: Ztschr. Biol., Vol. 63.

Urbach, C., (1933), Beiträge zur stufenphotometrischen Mikroanalyse des Harnes und des Blutes. IX. Mitteilung: Quantitative Bestimmung des Ammoniaks im Harn, in: Biochem. Ztschr., Vol. 259.

Wiechowski, W., (1913), Die Purinstoffe und das Allantoin in Neubauer-Huppert, Analyse des Harns, Vol. 2, Wiesbaden.

Wieland, H. u. C. Schöpf, (1925), Über den gelben Flügelfarbstoff des Citronenfalters (Gonepteryx rhamni), in: Dtsch. Chem. Gesellsch., Vol. 58.

—, (1926), Über das Leukopterin, das weiße Flügelpigment der Kohlweißlinge (Pieris brassicae und P. napi), ibid., Vol. 59.

Wieland, H., H. Metzger, C. Schöpf u. M. Bulow, (1933—1934), Über Leukopterin, das Flügelpigment der Kohlweißlinge (Pieriden), II, in: Annalen der Chemie, Vol. 507—508.

Wiener, H., (1899), Über Zersetzung und Bildung der Harnsäure im Thierkörper, in: Arch. exper. Path. u. Pharm., Vol. 42.

—, (1902), Die Harnsäure, in: Ergebn. d. Physiol., Vol. 1, Abt. 1.

Wolf, G. (1933), Die physiologische Chemie der nephridialen Stickstoffausscheidung bei Helix pomatia, in: Ztschr. vergl. Physiol., Vol. 19.

Druckfehlerberichtigung

zu Rudolf H. Fritsch,
Vergleichend physiologische Beobachtungen der Blutgerinnung bei Kaltblütern,
Band 57, Heft 2.

Auf S. 130, 16. Zeile von oben muß es statt „Ausflockung des Fibringels als Fibrinsol“ heißen „Ausflockung des Fibrinsols als Fibringel“.

Lippert & Co. G.m.b.H., Naumburg (Saale)
Printed in Germany.

Lebenslauf.

Ich, Joseph M. Spitzer, Sohn von Maurice J. und Clara I. Spitzer, wurde am 26. September 1908 in New York City geboren. Nach der Grammar School besuchte ich die De Witt Clinton High School in New York und 1927—1930 die University of Virginia in Charlottesville, Va. Von 1931—1932 besuchte ich die Columbia University in New York. Seit Beginn des Wintersemesters 1932 studiere ich an der Universität Bonn Medizin und Naturwissenschaften. Bei der Medizinischen Fakultät bin ich seit dem Wintersemester 1932 und bei der Philosophischen Fakultät seit dem Wintersemester 1933 eingeschrieben. Im Februar 1935 bestand ich in Bonn die ärztliche Vorprüfung und die mündliche Doktorprüfung am 24. Juni 1936.